

Evaluación del contenido de metales disueltos (Cd, Co, Cu, Mn, Pb y Zn) en aguas de La Bahía de Santa Marta, empleando un ICP-OES previa concentración y limpieza con resina NOBIAS Chelate-PA1



Carlos Alexander Jaimes Monsalve

Universidad Nacional Abierta y a Distancia
Escuela de Ciencias Básicas, Tecnología e Ingeniería
Programa de Química
Bogotá, Colombia
Septiembre de 2020

Evaluación del contenido de metales disueltos (Cd, Co, Cu, Mn, Pb y Zn) en aguas de La Bahía de Santa Marta, empleando un ICP-OES previa concentración y limpieza con resina NOBIAS Chelate-PA1

Carlos Alexander Jaimes Monsalve

Trabajo de grado presentado como requisito para optar al título de:
Químico

Directora

Marcela Andrea Zambrano Bothía. Qco Amb. Esp. Mg

Co-Director

Cesar Augusto Bernal. Qco. Mg

Universidad Nacional Abierta y a Distancia
Escuela de Ciencias Básicas, Tecnología e Ingeniería
Programa de Química
Bogotá, Colombia
Septiembre de 2020

DECLARACIÓN DE DERECHOS DE PROPIEDAD INTELECTUAL

Los autores de la presente propuesta manifestamos que conocemos el contenido del Acuerdo 06 de 2008, Estatuto de Propiedad Intelectual de la UNAD, Artículo 39 referente a la cesión voluntaria y libre de los derechos de propiedad intelectual de los productos generados a partir de la presente propuesta. Asimismo, conocemos el contenido del Artículo 40 del mismo Acuerdo, relacionado con la autorización de uso del trabajo para fines de consulta y mención en los catálogos bibliográficos de la UNAD.

AGRADECIMIENTOS

Después de haber finalizado este proyecto expreso mis agradecimientos principalmente a Dios por ser mi guía y acompañarme a lo largo del camino recorrido, brindándome la fuerza para superar obstáculos y culminar con éxito todas mis metas propuestas. Sin duda, no hubiera sido posible terminar este proceso sin todas aquellas personas e instituciones que de diferentes maneras me apoyaron y ayudaron a lograr esta meta.

Al Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras “José Benito Vives de Andrés” (INVEMAR) por financiar el proyecto y haber puesto todos sus recursos a mi disposición en el Laboratorio de Calidad Ambiental Marina (LABCAM).

A la Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD), especialmente al grupo de docentes que componen el programa de química, por realizar esa valiosa transferencia de conocimiento.

A mi directora de tesis Marcela Zambrano, quien dedicó tiempo para seguir el hilo de este proceso. Sus observaciones y sugerencias fueron fundamentales para poder cumplir satisfactoriamente con este proyecto.

A mi co-director de tesis Cesar Bernal, este proyecto no podría haberse realizado sin su ayuda, ya que fue quien me dio la oportunidad de laborar en el INVEMAR durante la etapa experimental del proceso, gracias por confiar en mis cualidades, recibirme en su

casa, estar al frente de todos los aspectos contractuales y técnicos que tuvimos que afrontar y por sus sabios consejos.

Al grupo de investigadores y coinvestigadores del LABCAM del INVEMAR, especialmente a Leydy Alarcon, Roika Angulo, Leonardo Rodríguez y Karen Ibarra, con quienes compartí durante cinco meses parte de este proceso y siempre tuvieron la mejor disposición de colaborarme en lo que fue necesario.

A mi pareja Andrea Lizcano con quien he contado siempre, principalmente en momentos difíciles y ha apoyado todos mis proyectos con mucho entusiasmo, incluso cuando estos requieren estar separados por la distancia; por eso y mucho más este logro también es suyo.

A mi familia, especialmente a mis padres y mi hermano quienes siempre me han dado su apoyo incondicional y sincero.

Dedicado a:

Mis padres Pablo y Betty

Mi Pareja Andrea

Mis hijos Mariana y Esteban

Mi tía Flor

RESUMEN

En el presente trabajo se elaboró una evaluación del contenido de metales disueltos en agua de la bahía de Santa Marta, en el departamento de Magdalena, la cual es el depósito final de los residuos generados por la actividad antrópica de la zona. Para poder llevar a cabo este estudio, fue necesario realizar la implementación de una novedosa metodología en Colombia, para la determinación de metales disueltos en agua de mar, basada en la preconcentración y limpieza de la muestra, mediante el uso de la resina NOBIAS Chelate PA-1 y lectura por Espectrometría de Emisión Atómica con Plasma Acoplado Inductivamente (ICP-OES, por sus siglas en inglés). Inicialmente se realizaron pruebas para determinación de Plata (Ag), Aluminio (Al), Bario (Ba), Cadmio (Cd), Cobalto (Co), Cromo (Cr), Cobre (Cu), Hierro (Fe), Manganeseo (Mn), Níquel (Ni), Plomo (Pb), Vanadio (V) y Zinc (Zn) disueltos en blancos fortificados y adicionados conocidos en muestras de mar. Posteriormente se llevaron a cabo ensayos adicionales experimentales de suficientes figuras de mérito a partir de estadística descriptiva (promedio, SD, % RSD, % error, % recuperación) y paramétrica (coeficiente de correlación y significancia) que permitieron validar Cd, Co, Cu, Mn, Pb y Zn disueltos en agua de mar, con una precisión expresada como $RSD < 15.0 \%$ y veracidad expresada en términos de recuperación entre (60 - 110) %.

Se realizó recolección de muestras el día 10 de octubre de 2019 (época de lluvia), en nueve puntos, que fueron elegidos debido a las descargas ocasionadas por el río Manzanares, escorrentías urbanas y el emisario submarino, así como actividades de turismo, transporte y portuarias. Las muestras fueron planificadas, recolectadas, preservadas, ingresadas y analizadas en el Laboratorio de Calidad Ambiental Marina (LABCAM) del Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras “José Benito Vives de Andrés” (INVEMAR), siguiendo los procedimientos establecidos. A partir de la metodología implementada y validada en el presente trabajo se determinaron

concentraciones por debajo del límite de cuantificación del método de Cd, Co, Cu, Pb y Zn disueltos en las muestras de agua recolectadas en la bahía de Santa Marta. En contraste, Mn fue detectado en todos los puntos y los valores fueron reportados con incertidumbre expandida al 95 % de confianza usando un factor de cobertura de 2, y se presentó una máxima concentración de $10.7 \pm 0.80 \mu\text{g Mn/L}$ en el punto Playa Batallón, el cual es influenciado por la desembocadura del Río Manzanares. Finalmente, la evaluación de la calidad del agua de la zona de estudio, se realizó por comparación de los resultados con las tablas de referencia para efectos agudos o crónicos sobre la biota marina (SQUIRTs) de la Administración Nacional de EUA para los Océanos y la Atmósfera (NOAA) (Buchman, 2008) y los criterios de calidad del agua recomendados por la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA, 2016) donde se encontró que los metales disueltos analizados no superaron los límites de referencia establecidos.

Los resultados obtenidos fueron comparados con los informes técnicos de diagnóstico y evaluación de la calidad de aguas marinas y costeras realizados por INVEMAR, publicados entre 2016 a 2020, donde se encontró que en las épocas de lluvia, incluido este estudio Cd, Cu, Pb y Zn no superaron los límites de referencia (Buchman, 2008) y (EPA, 2016). Sin embargo, en época seca de 2015 la concentración obtenida de Zinc ($101 \mu\text{g Zn/L}$) superó el límite para efectos agudos ($90.0 \mu\text{g Zn/L}$) y en 2018 la concentración obtenida de Plomo ($10.9 \mu\text{g Pb/L}$) superó el límite para efectos crónicos ($8.10 \mu\text{g Pb/L}$) (Buchman, 2008); por otra parte, Co y Mn no han sido reportados por INVEMAR. Adicionalmente los resultados de este estudio, fueron comparados con resultados de cinco estudios similares elaborados en zonas costeras internacionales ubicadas en Irán e India.

Palabras claves: Contaminación, metales disueltos, validación, toxicidad, límites permisibles.

ABSTRACT

In the present work, an evaluation of the content of dissolved metals in the water of the Santa Marta bay, in the Magdalena department, was elaborated, which is the final deposit of the residues generated by the anthropic activity of the area. In order to carry out this study, it was necessary to implement a new methodology in Colombia, for the determination of dissolved metals in seawater, based on preconcentration and cleaning of the sample, through the use of NOBIAS Chelate PA resin. -1 and read by Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry (ICP-OES). Initially tests were carried out to determine Silver (Ag), Aluminum (Al), Barium (Ba), Cadmium (Cd), Cobalt (Co), Chromium (Cr), Copper (Cu), Iron (Fe), Manganese (Mn), Nickel (Ni), Lead (Pb), Vanadium (V) and Zinc (Zn) dissolved in fortified targets and known additions in sea samples. Subsequently, additional experimental tests of sufficient figures of merit were carried out from descriptive statistics (average, SD,% RSD,% error,% recovery), and significance tests that allowed to validate Cd, Co, Cu, Mn, Pb and Zn dissolved in sea water, with a precision expressed as RSD <15.0% and truthfulness expressed in terms of recovery between (60 - 110)%.

Samples were collected on October 10, 2019 (rainy season), in nine points, which were chosen due to the discharges caused by the Manzanares River, urban runoff and the underwater outfall, as well as tourism, transport and ports. The samples were planned, collected, preserved, entered and analyzed in the Marine Environmental Quality Laboratory (LABCAM) of the Institute for Marine and Coastal Research "José Benito Vives de Andrés" (INVEMAR), following the established procedures. From the methodology implemented and validated in this work, concentrations below the limit of quantification of the method of Cd, Co, Cu, Pb and Zn dissolved in the water samples collected in the bay of Santa Marta were determined. In contrast, Mn was detected at all points and the values were reported with expanded uncertainty to 95% confidence using

a coverage factor of 2, and a maximum concentration of $10.7 \pm 0.80 \mu\text{g Mn / L}$ was presented at the Playa Batallón point. , which is influenced by the mouth of the Manzanares River. Finally, the evaluation of the water quality of the study area was carried out by comparing the results with the reference tables for acute or chronic effects on marine biota (SQUIRTs) of the US National Administration for Oceans and Atmosphere (NOAA) (Buchman, 2008) and the water quality criteria recommended by the United States Environmental Protection Agency (EPA, 2016) where it was found that the dissolved metals analyzed did not exceed the established reference limits.

The results obtained were compared with the technical reports of diagnosis and evaluation of the quality of marine and coastal waters carried out by INVEMAR, published between 2016 and 2020, where it was found that in the rainy seasons, including this study Cd, Cu, Pb and Zn did not exceed the reference limits (Buchman, 2008) and (EPA, 2016). However, in the dry season of 2015, the concentration obtained for Zinc ($101 \mu\text{g Zn / L}$) exceeded the limit for acute effects ($90.0 \mu\text{g Zn / L}$) and in 2018 the concentration obtained for Lead ($10.9 \mu\text{g Pb / L}$) exceeded the limit for chronic effects ($8.10 \mu\text{g Pb / L}$) (Buchman, 2008); on the other hand, Co and Mn have not been reported by INVEMAR. Additionally, the results of this study were compared with the results of five similar studies carried out in international coastal zones located in Iran and India.

Keywords: Contamination, dissolved metals, validation, toxicity, permissible limits.

CONTENIDO

INTRODUCCIÓN	24
1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	27
2. JUSTIFICACIÓN	28
3. OBJETIVOS	29
3.1. Objetivo general	29
3.2. Objetivos específicos	29
4. MARCO TEÓRICO	30
4.1. Metales disueltos en aguas marinas y costeras	30
4.2. Contaminación antropogénica	32
4.3. Propiedades químicas y toxicológicas de los metales	34
4.3.1. Cadmio	35
4.3.2. Cobalto	36
4.3.3. Cobre	36
4.3.4. Manganeseo	36
4.3.5. Plomo	37
4.3.6. Zinc	37
4.4. Métodos de extracción de metales	38
4.5. Quelatos	40
4.6. Resina NOBIAS CHELATE PA-1 (NC PA-1)	40
4.7. Técnica de ICP-OES	42
4.8. Validación de técnicas analíticas	44
4.9. Incertidumbre	44
4.10. Antecedentes	45
5. DISEÑO METODOLÓGICO GENERAL	49
5.1. Tipos de investigación	49
5.2. Diseño adoptado	49
5.3. Enfoque adoptado	50
5.4. Descripción metodológica general	51
5.5. Hipótesis	52
5.6. Variables	52
5.7. Población y muestra	52
5.8. Análisis estadístico	53

6.	FASE 1 - IMPLEMENTACIÓN DE TÉCNICA DE EXTRACCIÓN Y PRECONCENTRACIÓN MANUAL DE METALES DISUELTOS EN MUESTRAS DE AGUA MARINA CON LA RESINA NC PA-1	58
6.1.	Descripción metodológica Fase 1	58
6.1.1.	Montaje del sistema de extracción y preconcentración manual.....	60
6.1.2.	Procedimiento para extracción y preconcentración de blancos.....	62
6.1.3.	Procedimiento para extracción de muestras de agua marina.....	63
6.1.4.	Procedimiento de limpieza de la resina NC PA-1	64
6.1.5.	Almacenamiento de la resina NC PA-1	65
6.1.6.	Curvas de calibración de metales disueltos.....	65
6.1.7.	Prueba de carga y flujo de reactivos	66
6.1.8.	Prueba de pH, conductividad y salinidad de reactivos y muestras ..	67
6.1.9.	Análisis de blancos	68
6.1.10.	Pruebas de limpieza del buffer HAcO-NH ₄ AcO 0.05 M (pH 6)	69
6.1.11.	Pruebas de error y recuperación	70
6.1.12.	Prueba de análisis de pérdidas	73
6.1.13.	Prueba de la influencia del pH y potencial Redox en la determinación de metales disueltos	74
6.2.	Resultados y discusión fase 1	75
6.2.1.	Resultados de regresión lineal curvas de calibración	76
6.2.2.	Resultados prueba de carga y flujo de reactivos	79
6.2.3.	Resultados de prueba de pH, conductividad y salinidad de reactivos y muestras.....	81
6.2.4.	Resultados de análisis de blancos	84
6.2.5.	Resultados de pruebas de limpieza buffer HAcO-NH ₄ AcO 0,05 M.	85
6.2.6.	Resultados de pruebas de error y recuperación	88
6.2.7.	Resultados prueba de análisis de pérdidas	94
6.2.8.	Resultados de la influencia del pH en blanco fortificado	96
6.2.9.	Resultados en diagramas Pourbaix.....	98
6.3.	Conclusiones.....	104
6.4.	Recomendaciones.....	107
7.	FASE 2 - VALIDACIÓN DE CD, CO, CU, FE, NI, MN, PB Y ZN DISUELTOS EN MUESTRAS DE MAR A PARTIR DE LA RESINA NC PA-1 Y DETERMINACIÓN POR ICP-OES	108

7.1. Descripción metodológica fase 2.....	109
7.1.1. Figuras de mérito.....	109
7.1.2. Toma y preservación de muestras	111
7.1.3. Equipos y materiales	111
7.1.4. Reactivos.....	112
7.1.5. Operaciones de análisis	114
7.1.6. Procedimiento de los ensayos.....	116
7.1.7. Cálculos.....	120
7.2. Resultados y discusión de prevalidación.....	121
7.2.1. Linealidad	121
7.2.2. Sensibilidad	121
7.2.3. Estimación del Límite de Detección del Método (LDM) y Límite de Cuantificación del Método (LCM).	122
7.3. Resultados y discusión de validación del método	123
7.3.1. Cadmio	124
7.3.2. Cobalto	125
7.3.3. Cobre.....	126
7.3.4. Manganeseo.....	127
7.3.5. Plomo	128
7.3.6. Zinc.....	129
7.3.7. Veracidad	130
7.3.8. Robustez	130
7.3.9. Precisión.....	139
7.3.10. Selectividad	141
7.3.11. Rango del método	141
7.3.12. Estimación de la incertidumbre del método	142
7.4. Conclusiones.....	143
7.5. Declaración de aptitud del método	144
8. FASE 3 – DETERMINACIÓN Y EVALUACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE Cd, Co, Cu, Mn, Pb Y Zn EN LA BAHÍA DE SANTA MARTA A PARTIR DE LA METODOLOGÍA IMPLEMENTADA Y VALIDADA CON LA RESINA NC PA-1.....	145
8.1. Descripción metodológica fase 3.....	145
8.1.1. Recolección de muestras	146

8.1.2. Procesamiento de muestras	147
8.2. Resultados y discusión.....	147
8.2.1. Muestras recolectadas.....	147
8.2.2. Muestras procesadas	148
8.2.3. Comparación de metales disueltos en el área de estudio en años anteriores.....	152
8.2.4. Metales disueltos en otras zonas del mundo.....	154
8.3. Conclusiones.....	158
9. CONCLUSIONES GENERALES	159
10. RECOMENDACIONES.....	162
REFERENCIAS.....	163
APÉNDICE	172

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Resina NC PA-1	41
Figura 2. Fijación de grupos funcionales en la resina quelante NC PA-1 y formación de complejo metálico.	42
Figura 3. Esquema general de ICPE 9820 Series, SHIMADZU.	43
Figura 4. Esquema del diseño metodológico general.....	57
Figura 5. Montaje de preconcentración y limpieza de muestras de mar.....	60
Figura 6. Curvas de calibración Cd	76
Figura 7. Curvas de calibración Co	77
Figura 8. Curvas de calibración Cu	77
Figura 9. Curvas de calibración Mn.....	78
Figura 10. Curvas de calibración Pb.....	78
Figura 11. Curvas de calibración Zn.....	79
Figura 12. Resultados de pruebas 1 y 2 de limpieza del buffer.....	86
Figura 13. Concentraciones de metales en los eluatos del buffer - prueba 3.....	86
Figura 14. Concentración de metales disueltos en el buffer en la prueba 3.	87
Figura 15. Resultados de pH y potencial redox, graficados en diagramas de Pourbaix para sistemas cadmio, cobalto, cobre, manganeso, plomo y zinc - agua a 25 °C.	98
Figura 16. Distribución geográfica de los puntos de muestreo de agua recolectada en la bahía de Santa Marta, Magdalena. Fuente: INVEMAR- Coordinación GEZ (2019).....	146
Figura 17. Comportamiento de Cd, Cu, Pb y Zn en los años 2014 al 2019.....	153
Figura 18. Comparación de Cd, Co, Cu, Mn, Pb y Zn disueltos en agua de la bahía de Santa Marta con otras costas del mundo. Las barras negativas indican que los resultados se encuentran por debajo de los niveles de detección del método, mientras que los espacios sin barra indican que no se realizó el análisis.....	155

LISTA DE DIAGRAMAS

Diagrama 1. Procedimiento para montaje del sistema de preconcentración manual con el uso de resina NOBIAS Chelate PA-1.....	61
Diagrama 2. Procedimiento para extracción y preconcentración de blancos	62
Diagrama 3. Procedimiento para extracción de muestras de agua marina	63
Diagrama 4. Procedimiento de limpieza de la resina NC PA-1	64
Diagrama 5. Esquema del procedimiento de prueba de análisis de blancos	68
Diagrama 6. Optimización y calibración del ICP-OES	115
Diagrama 7. Preconcentración de muestras de mar	117
Diagrama 8. Preconcentración de blancos fortificados.....	118
Diagrama 9. Lectura de muestras por ICP-OES	119

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Fuentes de contaminación antrópica y natural de metales	33
Tabla 2. Fuentes de contaminación de metales en el departamento de Magdalena.....	34
Tabla 3. Criterios de aceptación de pruebas preliminares	59
Tabla 4. Estándares mixtos de las curvas de calibración de metales disueltos ($\mu\text{g/L}$)	65
Tabla 5. Resultados curva de calibración de Cd.....	76
Tabla 6. Resultados curva de calibración de Co.....	77
Tabla 7. Resultados curva de calibración de Cu.....	77
Tabla 8. Resultados curva de calibración de Mn	78
Tabla 9. Resultados curva de calibración de Pb	78
Tabla 10. Resultados curva de calibración de Zinc	79
Tabla 11. Tiempos de inyección manual de componentes con jeringa.....	79
Tabla 12. Tiempos de inyección manual de componentes por gravedad	81
Tabla 13. Resultados de pH durante la extracción con resina NC PA-1	82
Tabla 14. Resultados de salinidad durante la extracción con resina NC PA-1	83
Tabla 15. Resultados de metales en soluciones con HNO_3 y HCl	84
Tabla 16. Resultados de metales disueltos en blancos	84
Tabla 17. Resultados de prueba 1 de error y recuperación	88
Tabla 18. Resultados de prueba 2 de error y recuperación	90
Tabla 19. Resultados prueba 3 de error y recuperación	91
Tabla 20. Resultados prueba 4 de error y recuperación	93
Tabla 21. Resultados prueba de análisis de pérdidas	94
Tabla 22. Resultados de blanco fortificado a $\text{pH} < 2$ y 6.00 ± 0.05	96
Tabla 23. Soluciones estándar de elementos metálicos, condiciones óptimas de extracción y resultados de diagramas de Pourbaix.	99

Tabla 24. Figuras de mérito evaluadas en la validación de metales disueltos....	109
Tabla 25. Equipos empleados en la validación de metales disueltos	111
Tabla 26. Materiales de referencia certificados	113
Tabla 27. Condiciones instrumentales	114
Tabla 28. Muestras y blancos fortificados analizados en la Validación	116
Tabla 29. Sensibilidad de metales disueltos	121
Tabla 30. LDC y LCD estimados y confirmados en agua de mar	123
Tabla 31. Resumen estadístico de resultados de cadmio.....	124
Tabla 32. Resumen estadístico de resultados de cobalto.....	125
Tabla 33. Resumen estadístico de resultados de cobre	126
Tabla 34. Resumen estadístico de resultados de manganeso	127
Tabla 35. Resumen estadístico de resultados de plomo	128
Tabla 36. Resumen estadístico de resultados de zinc.....	129
Tabla 37. Resultados de veracidad	130
Tabla 38. Prueba F para Cd disuelto en blancos fortificados entre dos analistas	131
Tabla 39. Prueba F para Cd disuelto en muestra con adicionados entre dos analistas	131
Tabla 40. Prueba F para Co disuelto en blancos fortificados, entre dos analistas	132
Tabla 41. Prueba F para Co disuelto en muestras con adicionados entre dos analistas	132
Tabla 42. Prueba F para Cu disuelto en blancos fortificados, entre dos analistas	133
Tabla 43. Prueba F para Cu disuelto en muestras con adicionados entre dos analistas	133
Tabla 44. Prueba F para Mn disuelto en blancos fortificados, entre dos analistas	133
Tabla 45. Prueba F para Mn disuelto en muestras con adicionados entre dos analistas	134

Tabla 46. Prueba F para Pb disuelto en blancos fortificados, entre dos analistas	134
Tabla 47. Prueba F para Pb disuelto en muestras con adicionados entre dos analistas	135
Tabla 48. Prueba F para Zn disuelto en blancos fortificados, entre dos analistas	135
Tabla 49. Prueba F para Zn disuelto en muestras con adicionados entre dos analistas	136
Tabla 50. Prueba t para Cd disuelto entre dos analistas	137
Tabla 51. Prueba t para Co disuelto entre dos analistas	137
Tabla 52. Prueba t para Cu disuelto entre dos analistas	137
Tabla 53. Prueba t para Mn disuelto entre dos analistas	138
Tabla 54. Prueba t para Pb disuelto entre dos analistas.....	138
Tabla 55. Prueba t para Zn disuelto entre dos analistas.....	138
Tabla 56. Repetibilidad por analista.....	140
Tabla 57. Repetibilidad entre dos analistas	140
Tabla 58. Rangos del método para determinación en aguas de mar con la resina NC PA-1	141
Tabla 59. Incertidumbre expandida de Cd, Co, Cu, Mn, Pb y Zn.....	142
Tabla 60. Metodologías empleadas para análisis de aguas en campo y laboratorio.....	147
Tabla 61. Identificación y coordenadas de muestras recolectadas en la Bahía de Santa Marta el día 10 de octubre de 2019.....	148
Tabla 62. Resultados obtenidos en los controles de calidad analíticos y de muestreo, analizados junto al set de muestras de la Bahía de Santa Marta.	149
Tabla 63. Resultados de metales disueltos en la Bahía de Santa Marta.	150

LIISTA DE ECUACIONES

Ecuación 1. Fórmula media aritmética	53
Ecuación 2. Fórmula para el cálculo desviación estándar (SD)	54
Ecuación 3. Fórmula para el cálculo desviación estándar relativa (RSD)	54
Ecuación 4. Fórmula para el cálculo de porcentaje de error	54
Ecuación 5. Fórmula para el cálculo de porcentaje de recuperación	55
Ecuación 6. fórmula para calcular el t máximo.....	55
Ecuación 7. fórmula para calcular el t mínimo	55
Ecuación 8. Cálculo del valor F experimental	55
Ecuación 9. Fórmula para calcular t.....	56
Ecuación 10. Fórmula para calcular s	56
Ecuación 11. Fórmula para calcular el factor de concentración (Sohrin et al. 2008)	106
Ecuación 12. Fórmula para calcular la concentración real de cada metal disuelto (INVEMAR, 2019b).....	106
Ecuación 13. Fórmula para calcular la concentración real de metales disueltos con Fd	120
Ecuación 14. Determinación del LDM	122
Ecuación 15. Determinación del LCM	122

LISTA DE APÉNDICE

APÉNDICE A. COMPROBACIÓN DEL LDM Y LCM - CADMIO	172
APÉNDICE B. COMPROBACIÓN DEL LDM Y LCM - COBALTO.....	173
APÉNDICE C. COMPROBACIÓN DEL LDM Y LCM - COBRE	174
APÉNDICE D. COMPROBACIÓN DEL LDM Y LCM - MANGANESO.....	175
APÉNDICE E. COMPROBACIÓN DEL LDM Y LCM - PLOMO	176
APÉNDICE F. COMPROBACIÓN DEL LDM Y LCM - ZINC.....	177
APÉNDICE G. RESULTADOS DE CADMIO DISUELTO.....	178
APÉNDICE H. RESULTADOS DE COBALTO DISUELTO	179
APÉNDICE I. RESULTADOS DE COBRE DISUELTO.....	180
APÉNDICE J. RESULTADOS DE MANGANESO DISUELTO	181
APÉNDICE K. RESULTADOS DE PLOMO DISUELTO	182
APÉNDICE L. RESULTADOS DE ZINC DISUELTO	183
APÉNDICE M. DIAGRAMA CAUSA - EFECTO Y CONTRIBUCIONES DE INCERTIDUMBRE Cd	184
APÉNDICE N. PARAMETROS INSITU MUESTREO - BAHÍA DE SANTA MARTA.....	185

LISTA DE ANEXOS

ANEXO 1. Valores críticos F para un contraste de dos colas ($P= 0.05$).	186
ANEXO 2. Tabla de distribución de t.....	187

ABREVIATURAS

HAcO-NH ₄ AcO	Ácido acético- acetato de amonio
NC PA-1	NOBIAS Chelate PA-1
EFS	Extracción en fase sólida
FC	Factor de concentración
HAcO	Ácido acético
ICPMS	Espectrometría de Masas con Fuente de Plasma de Acoplamiento Inductivo
ICP-OES	Espectrometría de Emisión Atómica con Plasma Acoplado Inductivamente
LDPE	Polietileno de baja densidad
EAA	Espectroscopia de Absorción Atómica
PFA	Perfluoroalcoxi de teflón
RSD	Desviación estándar relativa
E ₀	Potencial Redox
LDM	Límite de Detección del Método
LCM	Límite de Cuantificación del Método

INTRODUCCIÓN

El presente proyecto se enfocó en la determinación y evaluación de metales disueltos en el agua de mar, provenientes principalmente de actividades antropogénicas que constituyen una problemática ambiental y de salud en los seres vivos debido a su toxicidad, causando serias consecuencias al introducirse en la cadena trófica. Algunos metales como Cu, Mn, y Zn son micronutrientes esenciales en pequeñas cantidades para el metabolismo de organismos acuáticos (Merciai, Guasch, Kumar, Sabater, & García-Berthou, 2014), mientras que Cd, Pb, Co son perjudiciales incluso a muy bajas concentraciones (Achary, Panigrahi, Satpathy, Prabhu, & Panigrahy, 2016). Por lo anterior la investigación de dicha problemática, se realizó con el interés de determinar las concentraciones de Cd, Co, Cu, Mn, Pb y Zn en el agua de la Bahía de Santa Marta de tal modo que al conocer y mantener un monitoreo continuo de las concentraciones de metales disueltos en aguas marítimas próximas al casco urbano, se puede tener una aproximación del impacto que generan las actividades antrópicas, con el fin de establecer bajo el control de autoridades ambientales competentes, límites permisibles y normas que contribuyan a un desarrollo sostenible. Sin embargo, la determinación de metales disueltos en agua de mar, representa una alta complejidad analítica debido a la baja concentración en la que se encuentran los analitos y la alta salinidad que causa interferencias en su determinación.

El desafío de la química analítica es establecer metodologías que sean amigables con el medio ambiente, minimizando el impacto provocado por la generación de residuos químicos, especialmente solventes orgánicos; además deben ser sencillos y permitir la determinación simultánea de varios analitos para ser más eficientes (Soriano, 2015). En este orden de ideas, se realizó la implementación y validación de una técnica basada en el empleo de resina NOBIAS Chelate PA-1 (NC PA-1), para la preconcentración y limpieza de muestras de mar y posterior determinación de metales disueltos por ICP-

OES, la cual permitió separar los metales disueltos de interés de la matriz y aumentar su concentración, eliminando interferencias causadas por la alta salinidad y mejorando la sensibilidad respectivamente. Posteriormente se realizó la recolección de las muestras, en nueve puntos de la Bahía de Santa Marta, considerados en este estudio neurálgicos, debido a que son influenciados por la desembocadura del Río Manzanares, escorrentías urbanas, emisario submarino, turismo, pesca y la actividad portuaria. Las muestras fueron procesadas empleando la metodología implementada y validada en el LABCAM y los resultados comparados con las tablas de referencia para efectos agudos o crónicos sobre la biota marina (SQUIRTs) de la Administración Nacional de EUA para los Océanos y la Atmósfera (NOAA) (Buchman, 2008) y los criterios de calidad del agua recomendados por la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA, 2016), esto permitió evaluar la calidad del agua del área de estudio y hacer un análisis del comportamiento de los metales disueltos objetivo en años anteriores, a partir de informes realizados por INVEMAR y comparar los resultados obtenidos con otros estudios similares realizados por Jafarabadi, Bakhtiyari, Toosi & Jadot (2017) en Irán y por Achary et al. (2016); Jayaprakash et al. (2015); Padhi et al. (2013) y Jonathan et al. (2008) en la India.

Área de estudio

La Bahía de Santa Marta, se ubica al norte del departamento de Magdalena, Colombia, entre las coordenadas 11°13'00" y 11°15'30" latitud norte y 74°12'30" y 74°14'30" longitud oeste, en el Mar Caribe, con un área y profundidad aproximada de 5 km² y 80 m respectivamente (Moscarella, García, & Palacio, 2011). Actividades económicas (turismo, pesca, transporte y almacenamiento de carbón) se realizan en la zona, en la cual también hay evidencia de procesos de erosión y descargas continentales (INVEMAR-GEO, 2014; Bastidas, Ordóñez, & Ricaurte, 2016). Existen dos temporadas de lluvias; entre abril y mayo la primera, y entre septiembre y noviembre la segunda; las mayores precipitaciones anuales, se presentan en la zona norte del departamento

(IDEAM, 2005; INVEMAR, 2016). En el oriente del Magdalena, durante el mes de octubre de 2019, fue escasa la precipitación debido a que no superó el acumulado de 100 mm, con un déficit de 19 %. (IDEAM, 2019).

Según el Plan de Ordenamiento Territorial (POT) (2018-2030) el río Manzanares desemboca en el Mar Caribe, en la Bahía de Santa Marta, el último tramo del cauce cruza parte de la zona urbana del Distrito de Santa Marta del noreste al suroeste y su zona de influencia corresponde a una zona bastante plana cerca de la desembocadura, donde la escorrentía superficial se encuentra condicionada por la baja pendiente y por las obstrucciones que se ejercen sobre los cauces por los procesos de urbanización.

El Departamento Administrativo Nacional Electoral DANE, (2019) afirma que la ciudad de Santa Marta tiene una población de 479.853 habitantes. Estos generan una gran cantidad de Aguas Residuales Domesticas (ARD), las cuales son vertidas a la bahía de Santa Marta a través del emisario submarino. El presente estudio se llevo a cabo en la zona influenciada por actividades antrópicas, que comprende las áreas urbanas de la ciudad, puerto marítimo multipropósito, el emisario submarino, desembocadura del del río Manzanares y el extremo marino frente a este.

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La contaminación con metales disueltos en aguas marinas es una realidad que va en aumento, debido a diferentes actividades antropogénicas e intensificación de procesos geoquímicos causado por erosión y lluvia. El departamento de Magdalena al igual que otras zonas del país no son ajenas a esta problemática, en la cual, particularmente la Bahía de Santa Marta presenta incidencia de descargas de aguas residuales a través del emisario submarino, río Manzanares y rebosamiento del alcantarillado público (INVEMAR, 2017). La desembocadura del río Manzanares y el vertimiento de aguas residuales domesticas de la ciudad, a través del emisario submarino, en cercanías a la bahía de Santa Marta, aportan un contenido de metales, por lo cual, es de vital importancia evaluar sus concentraciones en las aguas marinas circundantes y la influencia que pueden tener dichas fuentes de contaminación.

Actualmente, en el LABCAM del INVEMAR se realizan análisis de Cd, Cu, Pb y Zn disueltos en aguas marinas por espectroscopía de Absorción Atómica de llama directa aire-acetileno según la norma SM 3111-C, con extracción previa de la muestra, según la norma SM 3030-B (APHA, AWWA y WEF, 2017). Sin embargo, la metodología tiene desventajas considerables ya que genera una cantidad importante de residuos por el uso de solvente metil-isobutil-cetona empleado en el proceso de extracción, presentando baja sensibilidad en muestras con analitos de bajas concentraciones. Adicionalmente, el alto contenido de sales en aguas marinas dificulta la cuantificación de los metales en bajas concentraciones. A partir de la metodología implementada y validada, basada en el uso de la resina NOBIAS Chelate-PA1 y su determinación cuantitativa por ICP-OES, se logró evaluar la calidad del agua de La Bahía de Santa Marta en términos químicos, correspondientes a metales disueltos (Cd, Co, Cu, Mn, Pb y Zn).

Con base en lo anterior, el presente proyecto se realizó para dar respuesta a la siguiente pregunta de investigación: ¿Es posible evaluar el grado de contaminación de metales disueltos (Cd, Co, Cu, Mn, Pb y Zn) en la Bahía de Santa Marta, a partir de una metodología validada, basada en el uso de la resina NOBIAS Chelate-PA1 y su determinación cuantitativa por ICP-OES?

2. JUSTIFICACIÓN

El método para preconcentración y limpieza de muestras de mar, es novedoso en Colombia y ambientalmente más amigable que las técnicas convencionales. Los metales disueltos validados son de gran interés ambiental por sus características de bioacumulación, persistencia, biotransformación y alta toxicidad (Rodriguez, 2017). Actualmente, el LABCAM genera en promedio 132 L/mes de residuos contaminados con solvente metil-isobutil-cetona; con la implementación del nuevo método de concentración de muestras se generan solo 30 L/mes de residuos ácidos y, además, no requiere solventes orgánicos ni reactivos peligrosos, porque la extracción de los analitos se realiza filtrando la muestra a $\text{pH } 6,00 \pm 0,05$ a través de la fase sólida de la resina, permitiendo extraer los seis metales de interés en un solo paso. Como parámetros analíticos a destacar, el método tiene límites de detección más bajos que algunas técnicas convencionales, así como tiempos de respuesta más bajos e interferencias nulas para la lectura en equipos ICP-OES, AA o ICP-MS. De esta forma el INVEMAR cuenta con resultados confiables, en menor tiempo, favoreciendo a los clientes internos y externos, corroborando su compromiso con el ambiente.

Se realizó una evaluación de la bahía de Santa Marta, aplicando la metodología implementada y validada, para analizar muestras de agua marina, en nueve puntos neurálgicos de la zona comprendida entre el emisario 8 y Playa Batallón. De esta manera,

conocer las concentraciones de Cd, Co, Cu, Mn, Pb y ZN disueltos en el agua de mar de esta zona, para que las autoridades pertinentes, cuenten con información relevante, y puedan tomar decisiones en pro de generar e implementar controles que minimicen el impacto de los vertimientos.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo general

Evaluar el contenido de Cd, Co, Cu, Pb, Mn y Zn disueltos en agua de la bahía de Santa Marta, utilizando una metodología validada, basada en el uso de la resina NOBIAS Chelate-PA1 y determinación cuantitativa por ICP-OES.

3.2. Objetivos específicos

- Implementar montaje y procedimiento, para la preconcentración de metales disueltos en muestras de mar, empleando la resina NOBIAS Chelate PA-1.
- Validar el método para la determinación de Cd, Co, Cu, Mn, Pb y Zn disueltos en agua de mar, basada en el uso de la resina NOBIAS ChelatePA-1 y su determinación cuantitativa por ICP-OES.
- Determinar la concentración de Cd, Co, Cu, Mn, Pb y Zn en puntos neurálgicos de la bahía de santa Marta a través de la metodología validada.
- Evaluar el nivel de contaminación de metales disueltos empleando referentes internacionales de calidad de las aguas marinas.

4. MARCO TEÓRICO

En esta sección se presentan los temas más importantes que identifican el proyecto a partir de conceptos y en general temas fundamentales utilizados para el desarrollo de los objetivos planteados.

4.1. Metales disueltos en aguas marinas y costeras

El agua cubre el 71 % de la superficie terrestre y el 97 % de esta es salada y pertenece a los océanos, mientras que el 3 % restante corresponde al agua dulce (Krebs, 2003) citado en (Soriano, 2015). Muchas especies químicas orgánicas e inorgánicas se encuentran disueltas en el agua de mar con alto contenido de sales, por lo que se considera un sistema químico complejo. La salinidad se define como la cantidad de sales disueltas en una cantidad dada de agua de mar y expresada en partes por mil (‰) en masa. La salinidad en el agua de mar es en promedio 35 ‰. (Wright, Colling & Bearman, 1995) citado en (Soriano, 2015)

La salinidad de las zonas marino costeras son afectadas por la desembocadura de los ríos y además como lo afirman (Martínez G, Senior W, & Márquez A, 2006) son el principal vehículo de transporte de elementos químicos hacia el medio marino, especialmente de metales pesados. Según La Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC, 2002) el término “metal pesado” no ha sido definido por ningún organismo científico. Por esta razón, la expresión “metal disuelto” en este documento hace referencia a los elementos Ag, Al, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, V y Zn y fueron estudiados individualmente, de acuerdo a sus propiedades químicas y toxicológicas, por comparación con las tablas de referencia para efectos agudos o crónicos sobre la biota marina (SQUIRTs) de la Administración Nacional de EUA para

los Océanos y la Atmósfera (NOAA) (Buchman, 2008) y los criterios de calidad del agua recomendados por la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA, 2016).

La Convención de las Naciones Unidas sobre el Derecho del Mar, (1992) define la contaminación del medio marino como:

“La introducción por el hombre, directa o indirectamente, de sustancias o de energía en el medio marino incluidos los estuarios, que produzca o pueda producir efectos nocivos tales como daños a los recursos vivos y a la vida marina, peligros para la salud humana, obstaculización de las actividades marítimas, incluidos la pesca y otros usos legítimos del mar, deterioro de la calidad del agua del mar para su utilización y menoscabo de los lugares de esparcimiento”. (p 30).

Dentro de los aspectos negativos que proporciona la contaminación química en el mar, la Organización de las Naciones Unidas para la agricultura y la alimentación (FAO), (1996), manifestó que esta situación afecta directamente a la producción de pescado, produciendo mayor morbilidad, descenso de poblaciones o de ecosistemas enteros afectando incluso a la calidad del alimento que los peces consumen, provocando de esta forma reducción de las tasas de crecimiento. Por otra parte, en cuanto al panorama nacional sobre esta problemática ambiental (INVEMAR, 2020) afirma que en la zona costera de los siguientes departamentos tienen contaminación con metales disueltos: Islas de San Andrés, Providencia y Santa Catalina, Guajira, Magdalena, Atlántico, Bolívar, Sucre, Córdoba, Antioquía, Choco, Valle del Cauca, y Cauca como resultado de vertimientos de aguas residuales municipales, actividades productivas y socioeconómicas (turismo, ganadería, agricultura, acuicultura e industrias) propias de cada región, minería extractiva (plata, oro, platino, cobalto, Manganeseo, carbón, petróleo, gas y arcilla).

4.2. Contaminación antropogénica

En las últimas décadas, la contaminación por metales pesados es un tema que preocupa a la humanidad, tanto así que son muchas las investigaciones que se realizan para entender la problemática y proponer soluciones. Sin embargo, el contexto es mucho más complejo, por la creciente generación de residuos domésticos e industriales que son vertidos, no solo a cuerpos de agua continentales sino marítimos. Martorell, Citado por (Reyes, Vergara, Torres, Días, & González, 2016) asegura que:

“Los metales son persistentes, es decir, no pueden ser creados o degradados, ni mediante procesos biológicos ni antropogénicamente. Una vez que han entrado en los ecosistemas acuáticos, se transforman a través de procesos biogeoquímicos y se distribuyen entre varias especies con distintas características físico-químicas, por ejemplo, material particulado ($>0,45 \mu\text{m}$), coloidal ($1 \text{ nm}-0,45 \mu\text{m}$) y especies disueltas ($=1 \text{ nm}$)”.

La materia particulada y coloidal, tanto orgánica como inorgánica, desempeña un papel clave en la coagulación, la sedimentación y en los procesos de adsorción, los cuales influyen en los tiempos de residencia y transporte de los metales trazas desde la columna de agua a los sedimentos a otras matrices (Reyes *et al.*, 2016).

Por otra parte, (Cadavid, Pérez , & Marrugo, 2019) afirman que, a los procesos de coagulación, floculación, precipitación, cambios de pH, temperatura y salinidad, se les atribuye la movilidad de los metales de una zona estuarina. (Feria et al 2010; Arteaga et al. 2017) citado por Cadavid et al. (2019), aseguran que ciertas actividades aportan metales como el Cadmio, Cobalto, Cobre, Manganeseo y plomo, dentro de las que se destacan los vertimientos residuales, ganadería extensiva, abandono de estanques para cría de camarones, actividades turísticas, operaciones de riego y puerto de embarque de petróleo. En la **Tabla 1** se presentan las principales fuentes de contaminación antropogénicas y naturales con metales.

Tabla 1. Fuentes de contaminación antrópica y natural de metales

Metal	Fuente antropogénica Emisión / aplicación	Fuente natural / minerales metálicos
Cadmio	Baterías recargables de Ni/Cd, fertilizantes fosfatados, detergentes y productos de petróleo refinados, pigmentos e industria del plástico y PVC (cloruro de polivinilo), pinturas, galvanización, aleaciones, refinación del zinc, Minería y fundición, Industria textil, microelectrónica, vidrios, baterías, aleaciones de bajo punto de ebullición.	Carbonatos, sulfuros minerales de zinc y cobre, actividades volcánicas, incendios forestales, combustión del carbón, la madera y el petróleo, minerales propios son la greenockite o blenda de Cadmio (CdS)
Cobalto	Aleaciones, pigmentos, esmaltes, barnices, galvanización. En medicina se emplean disoluciones de radiocobalamina para el diagnóstico de la anemia hemolítica.	Rocas intrusivas ultra básicas, ácidas y sedimentarias
Cobre	Tuberías de cobre y minería del cobre, Industrias eléctrica y automovilística, construcción, conservación de madera. Se emplea como microbicida en forma de sulfato de cobre en la acuicultura, en el tratamiento de la contaminación por fitoplancton en aguas eutróficas y, en general, como producto quimioterápico en el control de bacterias, protozoos y hongos.	Metal libre (Cu ₀), Sulfuro de cobre (CuS ₂), Calcopirita (CuFeS ₂), drenaje de minas.
Manganeso	Plantas de producción de cemento, plantas de energía, incineración de residuos sólidos urbanos y la combustión de combustibles fósiles.	Minerales como Pirolusita
Plomo	Fundición de metales, loza vidriada, producción de pinturas, elaboración de latas soldadas con plomo, industria electrónica y de cómputo, uso de gasolina con plomo, baterías, incineración de residuos, pigmentos para pinturas y barnices, proyectiles y municiones, industria automovilística, insecticidas, fabricación de virios y cerámica.	Galena (PbS) Anglesita (PbSO ₄) Cerusita (PbCO ₃) Minio (PbSO ₄) Piromorfita (Pb ₅ (PO ₄)Cl) Boulangerita (Pb ₅ Sb ₄ S ₁₁) Crocoíta (PbCrO ₄) Wulfenita (PbMoO ₄)
Zinc	Es usado comúnmente en Aleaciones, bronce y latón, galvanización, baterías, pintura, productos agrícolas.	Blenda (ZnS), Willemita (ZnSiO ₄), Calamina (ZnCO ₃), drenaje de minas

Fuente: Autor a partir de referencias (Dunia, 2017; Solano, 2008; Hernández, 2012; Larios Bayona , 2014; Instituto Nacional de seguridad y salud en el trabajo INSST, 2012)

En la **Tabla 2**, se relacionan las fuentes de contaminación con metales en el departamento de Magdalena.

Tabla 2. *Fuentes de contaminación de metales en el departamento de Magdalena*

Actividad	Fuente Contaminante
Minería	Explotación y extracción de minerales metálicos (plata y oro) y no metálicos (mármol, materiales de construcción: arena, arcilla, grava, caliza, yeso, manganeso, feldespato y demás minerales; sal terrestre, roca coralina) - municipios de Santa Marta y Ciénaga
Residuos Municipales	Vertimientos de agua residuales domésticas sin tratamiento (emisario submarino en santa Marta, laguna de oxidación de Ciénaga, cuerpos de agua naturales, poblaciones palafíticas). Residuos sólidos (ordinarios y peligrosos), botaderos a cielo abierto, rellenos sanitario Palangana y La María
Otras actividades económicas	Turismo (hoteles, restaurantes, Actividades recreativas y de líneas de costa). Industria (Alimentos, fabricación de minerales no metálicos, lubricantes y derivados de petróleo, maderas y construcción, agrícola, químicos, portuarias). Servicios (estaciones de servicio, mantenimiento de automotores, explotación de minas y canteras, suministro de electricidad, telecomunicaciones, transporte, químicos, agrícola). Comerciales (Turismo, Alimentos y bebidas, mantenimiento de automotores, suministro de electricidad, salud, portuarios, químicos, agrícola).

Fuente: (INVEMAR, 2020, pág. 42)

4.3. Propiedades químicas y toxicológicas de los metales

Después de mencionar las fuentes antrópicas de los metales en estudio, es importante resaltar que estos en su mayoría son tóxicos y al entrar en contacto con los organismos acuáticos presentan acumulación y permanencia. Metales como el, Cu, Fe, Mo, Se, Zn son esenciales para los microorganismos. Sin embargo a altas concentraciones son dañinos para la biota acuática y se consideran altamente tóxicos, no esenciales o sin función metabólica el Pb, Cd, Hg (Espina & Vanegas, 2005) y Cr (Vélez, 2009) citado por (Barros, Doria, & Marrugo , 2016).

(Beltrán & Gómez, 2015) citado por (Barros, Doria, & Marrugo , 2016) afirma que la contaminación por metales es uno de los más graves problemas para los organismos

acuáticos y especies. El término “toxicidad” lo definió Loomis (1982), citado por (Espina & Vanegas, 2005) como: “*la propiedad de una sustancia de producir daño*” (p.81). Hansen et al., 1992^a, b; Rainbow et al., 1993 citado por (Espina & Vanegas, 2005) afirma que la biodisponibilidad e incorporación de los metales se ve incrementada a bajas salinidades, esto es producto de la especiación química del metal, interacciones con otros iones, mecanismo de regulación iónica y osmótica.

4.3.1. Cadmio

Es identificado con el símbolo químico Cd, en la tabla periódica pertenece al grupo 12, de número atómico 48 (International Union Of Pure and Applied Chemistry, 2018) sus propiedades químicas son muy relacionadas con las del Zn y se encuentra generalmente con éste metal (Instituto Nacional de seguridad y salud en el trabajo INSST, 2012). Lane y Morel (2000) citado por (Achary, et al., 2016) menciona que el Cadmio no es esencial y altamente tóxico en la vida silvestre, a excepción del papel que cumple en las diatomeas marinas. (Bjerregaard y Depledge, 1994) citado por (Espina & Vanegas, 2005) afirma que en bajas salinidades su bioacumulación es mayor. En aguas de mar, a menudo el Cd se presenta como un complejo orgánico y / o complejo con cloruro inorgánico (Pempkowiak et al., 2000, Padhi et al., 2013) citado por (Jafarabadi, et al., 2017), a menor salinidad mayor biodisponibilidad y concentración de cadmio en forma libre.

Efecto para la salud: En el en el organismo humano el cadmio es acumulativo, causa hipertensión arterial, daños en riñones, enfermedades pulmonares, osteoporosis en humanos y animales (Dunia, 2017), anemia, osteomalacia, trastornos nerviosos y respiratorios, cáncer de próstata, gastroenteritis, incluso efectos teratogénicos, y congénitos y túbulos renales que pueden acumularse hasta por 30 años, International Lead Association (ILA, 2013); JÄRUP, L., et al., 2012; World Health Organization (WHO), 2008; citado por (Londoño, Londoño , & Muñoz, 2016).

4.3.2. Cobalto

Identificado con el símbolo químico Co, en la tabla periódica pertenece al grupo 9, de número atómico 27 (International Union Of Pure and Applied Chemistry, 2018). En la salud humana causa dolor abdominal, dificultad respiratoria, vómito (Instituto Nacional de seguridad y salud en el trabajo INSST, 2012)

4.3.3. Cobre

Es identificado con el símbolo químico Cu, en la tabla periódica pertenece al grupo 11, de número atómico 29 (International Union Of Pure and Applied Chemistry, 2018). En aguas costeras (Jafarabadi et al., 2017) atribuye los bajos contenidos de cobre debido a la formación de complejos con ligandos orgánicos húmicos y fúlvicos producidos por aguas residuales.

Efecto para la salud: Dhir, B. et al, 2012; García, J et al, 2012 citado por (Londoño, Londoño , & Muñoz, 2016) relaciona que Causa anemia hipocrómica, alteraciones de crecimiento, insuficiencia cardíaca, infertilidad temporal. El uso de utensilios para almacenar alimentos provoca lesiones hepáticas, la ingestión puede provocar necrosis hepática y muerte.

4.3.4. Manganeseo

Es identificado con el símbolo químico Mn, en la tabla periódica pertenece al grupo 7, de número atómico 25 (International Union Of Pure and Applied Chemistry, 2018). En aguas de mar la ganancia de Manganeseo se ve reflejada en gran medida a procesos de meteorización continental, a procesos redox y procesos de entrada externa (Kremling, 1985, Schenau et al., 2002, Padhi et al., 2013) citado por (Jafarabadi et al., 2017). Las formas solubles de los óxidos de manganeseo son producto de la deficiencia de oxígeno

inducido por la degradación microbiana de la materia orgánica (Achary, et al., 2016) citado por (Jafarabadi et al., 2017). La inhalación afecta el sistema nervioso (Dunia, 2017)

4.3.5. Plomo

Identificado con el símbolo químico Pb, en la tabla periódica pertenece al grupo 14, de número atómico 82 (International Union Of Pure and Applied Chemistry, 2018).

Efecto para la salud: la exposición causa daños en el sistema nervioso, al igual que deficiencias renales, gastrointestinales, síntesis de proteínas y afectaciones en las articulaciones (Dunia, 2017). Tóxico, daños en el sistema nervioso, disminución de la agudeza auditiva, induce a la anemia, nefropatía, está catalogado dentro del grupo 2B como posible cancerígeno (Instituto Nacional de seguridad y salud en el trabajo INSST, 2012). La Agency For Toxic Substances And Disease Control, 2011 citado por (Londoño, Londoño , & Muñoz, 2016) relaciona que dentro de los daños generados en los adultos son hipertensión y enfermedades cardiovasculares y en niños retraso del desarrollo mental e intelectual de los niños. Es posible que ocasione en el feto efectos teratogénicos. Tavakoly, B., Et al. 2011, citado por (Londoño, Londoño , & Muñoz, 2016) Han demostrado los daños que por su efecto tóxico el plomo causa en animales sobre los gametos y en la sangre materna, minimizando de esta forma la duración de la gestación y afectando el peso de las crías.

4.3.6. Zinc

Identificado con el símbolo químico Zn, en la tabla periódica pertenece al grupo 12, de número atómico 30 (International Union Of Pure and Applied Chemistry, 2018). Lin et al., (2013) citado por (Achary et al., 2016) afirman que los invertebrados marinos son particularmente más afines a bioacumular, en el caso del Cobre y Zinc suelen ser transportados y almacenados por sedimentos y organismos propios de agua de mar.

Aunque el Zinc lo necesitan los organismos (Ruiz et al., 1996) citado por (Barros, Doria, & Marrugo , 2016), también es tóxico en concentraciones elevadas, por ejemplo, en peces, las altas concentraciones ocasionan problemas en branquias, ocasionando estrés, entre otros problemas (Palacio, 2007) citado por (Barros, Doria, & Marrugo , 2016). En la salud humana causa trastornos renales, neurológicos, hepáticos, inmunológicos, cardiovascular, de desarrollo y efectos genotóxicos (Dunia, 2017)

Para determinar el nivel de toxicidad de metales en muestras medioambientales acuosas y/o en muestras biológicas, según sea el caso, se debe establecer la elección de la técnica más adecuada para el uso previsto (matriz, selectividad, etc.) y así poder obtener resultados de calidad, que reflejen el estado real de la zona de estudiada. Para el caso de los metales en agua de mar, existen varios métodos de extracción y lectura.

4.4. Métodos de extracción de metales

Antes de implementar de una metodología que busque una eficiencia en la determinación de metales disueltos, esta debe cumplir algunas características importantes que respalden su elección. En este sentido el alcance debe abarcar la capacidad de separar el analito de la matriz y tener un buen factor de concentración, ser un procedimiento sencillo, con el empleo de pocos reactivos para minimizar la contaminación, blancos del método de concentración insignificante, bajos límites de detección, y producir un extracto final fácilmente comparable a las disoluciones patrón empleadas en la calibración (Crompton, 1989) citado por (Soriano, 2015).

Existen diferentes métodos para separar metales de aguas de mar, entre los que se pueden mencionar coprecipitación, extracción líquido-líquido, extracción en punto de nube y el método de extracción en fase sólida, este último fue empleado en el presente

estudio, por ello se realizó un mayor énfasis en este. La extracción en fase sólida (EFS) es una técnica preparativa que el analista utiliza para “limpiar” la muestra previa la cuantificación y/o para futura concentración del analito que está presente en la muestra. Gary (2009) afirma: “La extracción en fase sólida es un método en el que se unen grupos funcionales hidrofóbicos a superficies de partículas sólidas y funcionan como fase extractora. Con ello se reduce la necesidad de manejar grandes volúmenes de disolventes orgánicos” (p. 541). El término “extracción en fase sólida” es debido a que el material de soporte utilizado es un sólido, a través del cual pasa un líquido o un gas. Los analitos son adsorbidos en el soporte y luego eluidos de acuerdo a sus diferentes afinidades entre el material adsorbente y la fase móvil utilizada (Teknokroma, s.f.).

En las técnicas establecidas para EFS, una fase sólida es la responsable de la separación (sorbente) y se emplea una fase líquida para la desorción o elución de los analitos (eluyente), generalmente son empleadas para la separación y preconcentración de analitos contaminantes en muestras medioambientales acuosas y en muestras biológicas. Existen dos modos de trabajo posibles, dependiendo del uso que se le dé al sorbente, en relación al tratamiento que se quiera aplicar a la muestra. En el primero, el sorbente se utiliza para retener de modo selectivo los interferentes de la muestra, en este caso el factor de concentración es nulo. En el segundo, el sorbente se utiliza para retener los analitos y eliminar los interferentes, en este caso, el factor de concentración dependerá de la cantidad de muestra procesada y del volumen de eluyente empleado en la desorción de los analitos. Este último fue el modo de trabajo empleado para extraer y concentrar los metales en este estudio. El método no es tan sencillo debido a que la selectividad de la técnica es limitada y a que las muestras medioambientales, en especial el agua de mar, presentan un importante grado de complejidad. Por ello, los análisis cuentan con etapas de activación del sorbente, carga de la muestra, etapa de lavado para ayudar a la eliminación de los interferentes y desorción de los analitos con un eluyente adecuado para la posterior determinación instrumental (Soriano, 2015).

4.5. Quelatos

Los quelatos son complejos formados por la unión de un metal y un compuesto que contiene dos o más ligandos potenciales. El proceso de formación del quelato se conoce como quelatación o quelación, y se define como la capacidad de un compuesto químico para formar una estructura en anillo con un ion metálico. Los iones metálicos existen en solución, en forma altamente hidratada, Por ejemplo, los iones de Cu^{+2} están rodeados por cuatro moléculas de agua (otros metales pueden tener más o menos moléculas de agua rodeándolos). Cuando se reemplaza una de estas moléculas por una de molécula de un agente quelante (ligando), se forma una estructura compleja en anillo llamada quelatación (WALCO, 1997).

Un complejo se define como una especie formada por la asociación de 2 o más especies capaces de existir independientemente. Se conocen como complejo metálico cuando la especie más simple es un metal, el cual generalmente ocupa la posición central. Algunos ligandos se unen al metal por más de un donador formando un anillo heterocíclico. Este tipo de anillo recibe el nombre especial de quelato, palabra que procede del griego chele, pinza de cangrejo (Dwyer & Mellor, 1964; Flaschka & Bernard, 1967) citado por (Herbello, 2007).

4.6. Resina NOBIAS CHELATE PA-1 (NC PA-1)

Está compuesta por un polímero de metacrilato hidrofílico, en el que se encuentran los ácidos etilendiaminotriacético e iminodiacético inmovilizados, es producida por *Hitachi High – Technologies* y patentada por (Yoshinori, Hideyuki, Mitsuru, & Shigehiro, 2004) se encuentra contenida en una jeringa de 12 mm de diámetro interno y una cama de 5 mm de altura, tiene un diámetro medio de partículas de 60 μm (Ver **Figura 1**).

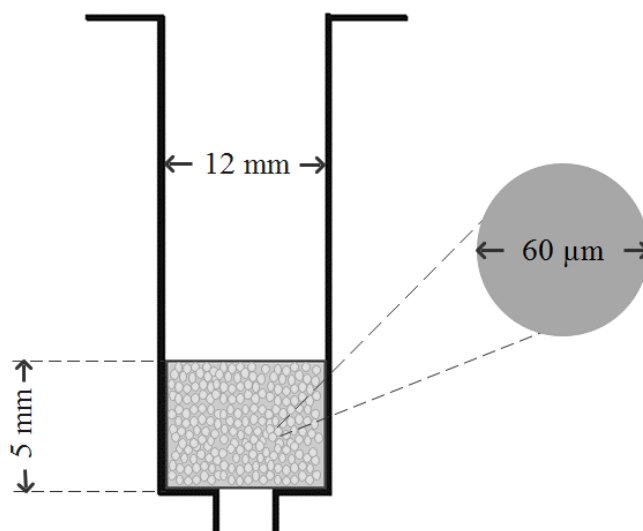


Figura 1. Resina NC PA-1

Fuente: Autor

La característica que diferencia la resina *NC PA-1* de otras, es el polímero de metacrilato hidrofílico, el cual aumenta la accesibilidad de los grupos funcionales a los iones metálicos (ver **Figura 2**) incrementando la eficiencia de la adsorción y elución de los metales. Estos grupos funcionales tienen una capacidad muy buena para formar quelatos con muchos metales de transición (Cu, Ag, Zn, Fe, Co, Mn, Cd, Pb, etc) y lantánidos (Ce, Pr, Nd, Eu, Lu, Er etc) en medio ligeramente ácido. La capacidad de capturar metales alcalinos (Li, Na, K, Rb y Cs) y metales alcalinoterreos (Be, Mg, Ca, Sr, Ba) es insignificante en las mismas condiciones. (Xing, Sardar, Lin , & Lin, 2019)

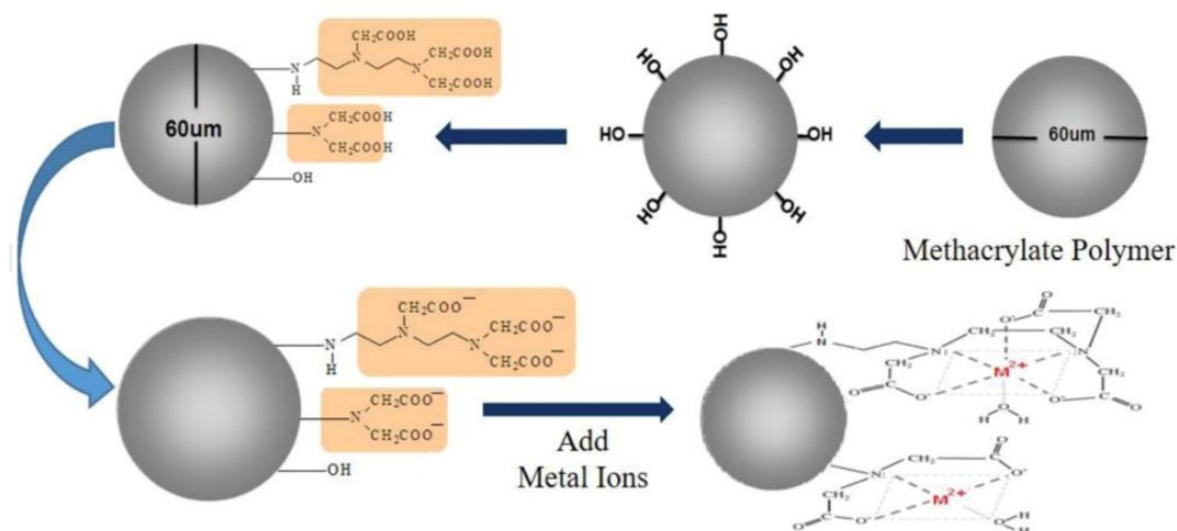


Figura 2. Fijación de grupos funcionales en la resina quelante NC PA-1 y formación de complejo metálico.

Fuente: Xing et al., 2019

4.7. Técnica de ICP-OES

La Espectrometría de Emisión Atómica con Plasma Acoplado Inductivamente (ICP-OES), es una técnica analítica utilizada para la detección de elementos químicos. La norma SM 3120 B Según APHA et al. (2017) refieren que una fuente de ICP consiste en una corriente de flujo de gas argón ionizado por un campo de radiofrecuencia aplicada que oscila típicamente a 27,1 MHz. Este campo se acopla inductivamente al gas ionizado por una bobina enfriada por agua que rodea una "antorcha" de cuarzo que sostiene y confina el plasma. Se genera una muestra de aerosol en un nebulizador y una cámara de pulverización apropiados y se transporta al plasma a través de un tubo inyector ubicado dentro de la antorcha. La muestra de aerosol se inyecta directamente en el ICP, sometiendo a los átomos constituyentes a temperaturas de aproximadamente 6000 a 8000 ° K. Debido a que esto resulta en una disociación casi completa de las moléculas, se logra una reducción significativa en las interferencias químicas. La alta temperatura del plasma excita la emisión atómica de manera eficiente. La ionización de un alto

porcentaje de átomos produce espectros de emisión iónica. El ICP proporciona una fuente ópticamente "delgada" que no está sujeta a la autoabsorción, excepto a concentraciones muy altas. Así, se observan rangos dinámicos lineales de cuatro a seis órdenes de magnitud para muchos elementos (APHA et al., 2017).

El plasma de acoplamiento inductivo (ICP) es una fuente de ionización que junto a un espectrofotómetro de emisión óptico (OES) constituye el equipo de ICP-OES. (ver **Figura 3**).

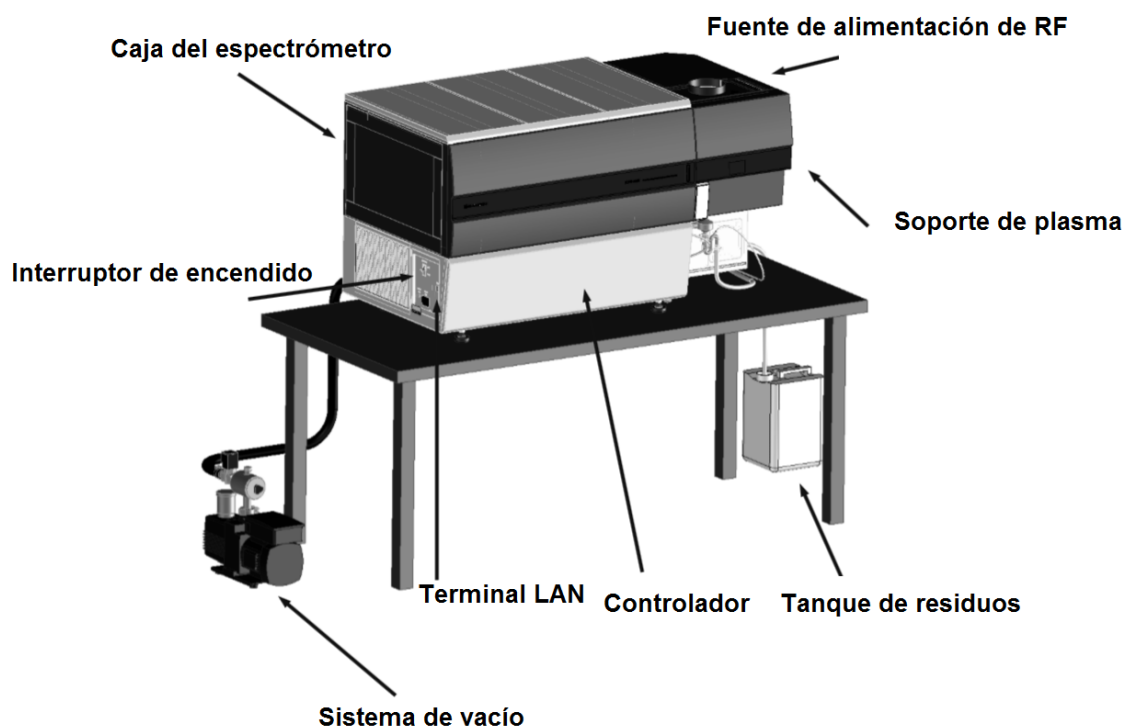


Figura 3. Esquema general de ICPE 9820 Series, SHIMADZU.

Fuente: (SHIMADZU, 2014)

4.8. Validación de técnicas analíticas

Según la norma ISO/IEC 17025 Citado por (Eurolab España. P.P. Morillas y colaboradores, 2016) la validación es la “*confirmación, a través del examen y aportación de evidencias objetivas, de que se cumplen los requisitos particulares para un uso específico previsto*”. Ésta se puede interpretar para la validación de un método como el proceso de definir una necesidad analítica y confirmar que el método en cuestión tiene capacidades de desempeño consistentes con las que requiere la aplicación. Está implícita la necesidad de evaluar las capacidades de desempeño del método y es una de las medidas reconocidas de un sistema integral como garantía de la calidad en el ámbito de la química analítica.

Según Eurolab España et al. (2016) “un método debe validarse cuando sea necesario demostrar que sus características de desempeño son adecuadas para el uso previsto”. La norma ISO/IEC 17025 Citado por Eurolab España et al. (2016) establece algunos casos: “Métodos no normalizados, métodos diseñados/desarrollados por el laboratorio, métodos normalizados usados fuera de su ámbito de aplicación, ampliaciones o modificaciones de métodos normalizados, para demostrar la equivalencia entre dos métodos normalizados”, por ejemplo, entre un método recientemente desarrollado y un método normalizado existente.

4.9. Incertidumbre

La guía ISO para la expresión de incertidumbre en la medición (Citado por (EURACHEM/CITAC, 2012) define incertidumbre como: “*Parámetro asociado al resultado de una medida, que caracteriza la dispersión de los valores que podrían razonablemente ser atribuidos al mensurando*”. Uno de los métodos recomendados para estimar la incertidumbre es mediante el uso del diagrama de Ishikawa o diagrama causa-

efecto; que permite determinar las principales fuentes de incertidumbre en una medida de forma individual y finalmente se calcula la incertidumbre total mediante la suma de las fuentes estimadas (EUROCHEM/CITAC, 2012).

Los laboratorios de ensayo y calibración deben aplicar métodos y procedimientos apropiados para todos los ensayos, y por esta razón, la selección de dichos métodos debe ser rigurosa. Se deben escoger metodologías, en lo posible, normalizadas, publicadas nacional o internacionalmente que satisfagan las necesidades de los clientes. La norma ISO/IEC 17025:2017 obliga a los laboratorios de ensayo y calibración, usar procedimientos normalizados y publicados, o procedimientos no normalizados que han sido validados; esto con el fin de confiar en los resultados emitidos por dichas organizaciones.

4.10. Antecedentes

En un reciente estudio elaborado por (Xing, et al., 2019) emplearon la resina *NC PA-1* para la preconcentración metales traza en muestras de agua mediante Espectrometría de Masas con Fuente de Plasma de Acoplamiento Inductivo (ICP-MS) y HPLC. El 4- (2-pyridylazo) resorcinol (PAR) fue empleado como un reactivo quelante de la columna. El paso de pretratamiento de la muestra se logró mediante concentración de los analitos y se determinaron Cd (II), Co (II), Cu (II), Mn (II), Ni (IV), Pb (II) y Zn (II) en las muestras de agua embotellada y agua de grifo. Lograron obtener preconcentrados de 50 veces la muestra de prueba, con 250 mg de la resina quelante *NC PA-1*, el contenido de metales se pudo detectar con precisión utilizando ambos equipos (HPLC e ICP-M). La técnica de HPLC permite la detección cuantitativa de agua embotellada y agua de grifo en diferentes concentraciones con coeficiente determinación de (R^2) mayores a 0,9990.

Sohrin et al. (2008) introdujeron un método novedoso de extracción en fase sólida para determinar Al, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Cd y Pb en agua de mar ajustando el pH a 6 y realizando un solo paso de preconcentración. Para ello emplearon la resina *NC PA-1*, la cual tiene una excelente afinidad para trazar y preconcentrar iones metálicos en columna cerrada, lo que reduce el riesgo de contaminación; los metales disueltos en el eluato fueron determinados por ICPMS. El método lo aplicaron con éxito para determinar las nueve trazas de metales en agua superficial de océano abierto y materiales de referencia certificados de agua de mar NASS-5 y nearshore agua de mar CASS-4 para validar su exactitud y precisión. Los resultados obtenidos se encontraron dentro de los rangos de los valores certificados, excepto que no hubo valor certificado para Al. Las RSD de los resultados fue menor del 9%. Se midieron los siguientes isótopos: ^{27}Al , ^{55}Mn , ^{54}Fe , ^{56}Fe , ^{59}Co , ^{60}Ni , ^{62}Ni , ^{63}Cu , ^{65}Cu , ^{66}Zn , ^{68}Zn , ^{111}Cd , ^{112}Cd , ^{114}Cd , ^{206}Pb , ^{208}Pb , ^{55}Mn , ^{54}Fe y ^{56}Fe .

. Según los autores, este procedimiento presentó las siguientes ventajas:

- La recuperación de los metales traza analizados fue $100 \pm 4 \%$.
- El 99.9% de metales alcalinos y alcalinotérreos fueron eliminados.
- El espacio en blanco del procedimiento fue $< 7 \%$ de la media concentración en aguas oceánicas profundas, pero 16% para Pb. En general el límite de detección es $< 14\%$ de la concentración media en aguas del océano profundo. Sin embargo, las concentraciones de Fe, Zn y Cd en la superficie del agua en el océano abierto es más baja que los límites de detección.
- En general el límite de la RSD para agua de mar profundo fue $< 9 \%$.
- La preconcentración se realizó en laboratorio y tomó solo 2 h para un ciclo. Este método permitió en un paso, la preconcentración de Al, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Cd y Pb.

La REDCAM “Red de Vigilancia para la Conservación y Protección de las Aguas Marinas y Costeras de Colombia”, bajo la coordinación del INVEMAR y la participación de las Corporaciones Autónomas Regionales y de Desarrollo Sostenible (CAR) con jurisdicción costera e insular, ha monitoreado la calidad del agua marino costera desde el año 2001 hasta el 2019 en al menos 350 estaciones, dispuestas en el Pacífico y Caribe Colombiano (INVEMAR, 2020). Cinco de dichas estaciones, se encuentran en el área de estudio del presente proyecto correspondientes a Boya 2, Cabotaje (calle 10), Emisario 8, F. Manzanares y Puente calle 22, en este sentido, es el único referente que ha ejecutado evaluaciones de metales pesados disueltos, plomo (Pb), cadmio (Cd), hierro (Fe), cobre (Cu), zinc (Zn), níquel (Ni), cromo VI (Cr^{+6}) y otros parámetros en aguas de la Bahía de Santa Marta en los últimos años. INVEMAR (2020) publicó en el informe técnico 2019, los resultados obtenidos para los metales disueltos mencionados, y en ninguno se supera las referencias para efectos crónicos y agudos en organismos de agua marina y dulce propuesto por la NOAA (Buchman, 2008), además el diagnóstico de la calidad del agua fue óptima y adecuada, según el Indicador de Calidad Ambiental Marina para preservación de fauna y flora (ICAM_{pff}) que integra variables fisicoquímicas, microbiológicas y contaminantes.

En 2015 (Ramos & Salas, 2015) realizaron un estudio titulado: “Evaluación de metales pesados en aguas superficiales en el área de influencia al emisario submarino en el corregimiento de Punta Canoas departamento de Bolívar”; en el cual, se realizaron determinaciones de cadmio por espectroscopia de absorción atómica en unidades de mg/L, encontrando valores mayores que los límites permisibles de metales pesados en Aguas costeras en Colombia.

En el estudio realizado por (Martínez G, Senior W, & Márquez A, 2006) se realizó un estudio de especiación de metales disueltos en aguas dulces del río Manzanares y marinas del Golfo de Cariaco, Estado Sucre, Venezuela, donde evaluaron Mn, Cd, Zn y

Pb disueltos en diferentes puntos dentro de los cuales son de interés de la presente investigación la interfase de agua río-mar (desembocadura del Río, lo que llaman región de mezcla) y al extremo marino o pluma. El procedimiento de Martínez et al. 2006, se realizó usando 3 clases de resinas: Toyopearl HW – 75F, Toyopearl DEAE 650(M) y Chelex-100, las cuales se fraccionan en D1 (atrapa oxihidróxidos metálicos y coloides de sulfuros metálicos), D2 (extrae metales pesados en la fracción disuelta) y D3 (extrae metales en forma libre e hidratada en cantidades trazas) respectivamente. La elución se realizó con una mezcla de HCl y HNO₃ y la determinación se hizo por espectrofotometría de absorción atómica. En los resultados obtenidos, el Mn presentó una concentración significativa en la zona de mezcla durante los periodos de sequía y lluvia. El Pb no se detectó en zona de mezcla, pero si en el extremo marino, con un rango de concentración de 0.010 a 0.017 $\mu\text{mol/L}$. El Cu en el periodo de lluvias, registró concentración significativa en la fracción D3 a lo largo del extremo marino, mientras que en el periodo de sequía se encontraron trazas del metal en la región de mezcla. El Zn presentó concentraciones bajas, lo cual fue atribuido a la adsorción de metales pesados por la arcilla y la materia orgánica. Por último, el cadmio se presentó aportes en la zona de mezcla en enero del segundo año en estudio, mientras que en el extremo marino no se detectó Cd.

En 1998 (Macias, Garcia, & Taborda, 1998) pertenecientes a la Universidad de Magdalena, realizaron una investigación titulada *“Determinación de los niveles de metales pesados manganeso, plomo, cobre, hierro, zinc, cadmio y mercurio en aguas y sedimentos en el sector “El Boqueron” de la Bahía de Santa Marta”*. A través de análisis físicos y químicos determinaron los niveles de metales pesados de Hierro, Cobre, Zinc, Cadmio, Plomo, Mercurio y Manganeso en el sedimento y agua residual municipal de la ciudad de Santa Marta. Se establecieron niveles de dichos metales que comparados con estudios similares en la Costa Caribe y regiones tropicales y subtropicales de otros países resultaron mayores. Los metales fueron determina por la técnica de absorción atómica y reportados en mg/L.

5. DISEÑO METODOLÓGICO GENERAL

Luego de haber definido y contextualizado el planteamiento del problema, en esta sección se describe en forma general cómo se abordó la investigación, con la finalidad de cumplir los objetivos formulados y de esta manera dar respuesta a la pregunta de investigación. Debido a la extensión del proyecto, el diseño metodológico general se organizó en tres fases (fase 1, fase 2 y fase 3). En este sentido, además de la descripción metodológica general presentada en el ítem 5.4 cada fase tiene una descripción metodológica adicional de aspectos más puntuales realizados en cada una de ellas.

5.1. Tipos de investigación

Para el desarrollo del presente proyecto, se aplicaron dos tipos de investigación. La primera fue de carácter descriptiva ya se indicó la descripción del area de estudio con alta actividad antrópica, la recolección de muestras en nueve puntos neuralgicos y la determinación del contenido de metales disueltos por medio de un método validado en este estudio con el uso de resina NC PA-1 y una técnica instumental llamada ICP-OES. La segunda fue de carácter evaluativa porque el contenido de Cd, Co, Cu, Mn, Pb y Zn disueltos, se comparó con referentes internacionales de calidad de las aguas marinas como Screening Quick Reference Tables (SQuiRTs) de la Administración Nacional Oceánica y Atmosférica de EUA (NOAA) (Buchman, 2008) la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos EPA por sus siglas en inglés (EPA, 2016).

5.2. Diseño adoptado

En este proyecto se adoptó un diseño experimental y otro no experimental. El diseño experimental comprende la implementación y validación del método de análisis de metales disueltos, recolección de muestras en la Bahía de santa marta y la determinación

del contenido de metales disueltos. se realizaron ensayos preliminares establecidos en este proyecto, producto de la asesoría de un experto en química del INVEMAR (implementación) y otros posteriores con protocolos establecidos por el LABCAM (validación, recolección de muestras y determinación de metales disueltos). En este diseño se manipularon algunas condiciones y/o características, del objeto de estudio, tratando de plantear relaciones entre dos o más variables basadas en la observación y probadas en la realidad.

Finalmente, el diseño no experimental fue basado en el análisis de las variables que afectaron la investigación y en la valoración de la trascendencia que tiene la investigación. Es decir, se realizó una evaluación de los resultados obtenidos en la parte experimental, comparándolos con referentes internacionales de calidad de las aguas marinas Screening Quick Reference Tables (SQuiRTs) de la Administración Nacional Oceánica y Atmosférica de EUA (NOAA) (Buchman, 2008) y la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos EPA por sus siglas en inglés (EPA, 2016).

5.3. Enfoque adoptado

Se adoptó un enfoque mixto, teniendo en cuenta que en esta investigación se trataron datos cuantitativos y cualitativos, que fueron analizados para dar respuesta a la pregunta de investigación planteada. El enfoque cuantitativo se relaciona con los datos numéricos obtenidos por ICP-OES a partir de ensayos experimentales y el enfoque cualitativo al tratamiento comparativo de dichos resultados con referencias para determinar si se superaban o no los niveles para la afectación de la biota marina en la Bahía de Santa Marta.

5.4. Descripción metodológica general

Luego de haber definido y contextualizado la problemática de la investigación se cumplieron de forma sistemática los objetivos planteados como se indica a continuación:

La fase 1 de la metodología fue diseñada dar cumplimiento al el primer objetivo, a partir de pruebas preliminares y usando los materiales disponibles en LABCAM que permitieron la implementación del montaje y procedimiento para la preconcentración de metales disueltos en muestras de mar, empleando la resina NC PA-1.

La fase 2, permitió obtener las evidencias objetivas suficientes para la aprobación de las figuras de mérito evaluadas logrando validar el método para la determinación de Cd, Co, Cu, Mn, Pb y Zn disueltos en agua de mar y así culminar satisfactoriamente el segundo objetivo.

Por último, en la fase 3 se realizó la recolección de muestras en nueve puntos neurálgicos planificados de la Bahía de Santa Marta. Las muestras fueron procesadas en el LABCAM con la metodología validada, donde se determinó la concentración de Cd, Co, Cu, Mn, Pb y Zn luego los resultados se evaluaron por comparación con los valores de referencia para efectos crónicos y agudos en organismos marinos propuesto por la NOAA (Buchman, 2008) y los criterios de calidad del agua recomendados por la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA, 2016). De esta forma se cumplió con el tercer y cuarto objetivo.

5.5. Hipótesis

Hipótesis de investigación (H_i): La comparación de los resultados obtenidos por medio de la metodología analítica validada, basada en el uso de la resina NC PA-1 e ICP-OES con referentes internacionales de afectación a la biota marina, demostraron que fue posible evaluar el grado de contaminación con metales disueltos (Pb, Ni, Fe, Cd, Cu y Zn) en el área estudiada de la Bahía de Santa Marta.

Hipótesis nula (H_0): La comparación de los resultados obtenidos por medio de la metodología analítica validada, basada en el uso de la resina NC PA-1 e ICP-OES con referentes internacionales de afectación a la biota marina, demostraron que no fue posible evaluar el grado de contaminación con metales disueltos (Pb, Ni, Fe, Cd, Cu y Zn) en el área estudiada de la Bahía de Santa Marta.

5.6. Variables

Fueron seleccionadas las características más importantes que hacen parte del problema de investigación, de acuerdo a su naturaleza:

- Variable independiente: pH de la muestra de agua de mar
- Variable dependiente: contenido ($\mu\text{g/L}$) de Cd, Co, Cu, Mn, Pb y Zn disueltos en agua de mar.

5.7. Población y muestra

A continuación, se presentan los sujetos participantes de la investigación:

- **Población:** El agua de la Bahía de Santa Marta delimitada por el área comprendida entre Playa Batallón y Emisario Submarino (ver **Figura 16**).
- **Muestras:** Se realizó una recolección de muestras puntuales, superficiales de agua de mar en nueve puntos, los cuales fueron georreferenciados (ver **Tabla 61**), considerados en este estudio neurálgicos por su alta actividad antrópica en de la Bahía de Santa Marta, en época de lluvia. Adicionalmente, en los puntos cuyas profundidades superaron los 3 m también se tomó muestra de fondo a 1 m del lecho marino.

5.8. Análisis estadístico

Todos los datos fueron tratados estadísticamente con el software Excel. Se realizó un análisis estadístico descriptivo utilizando: media aritmética (promedio), desviación estándar (SD), desviación estándar relativa (%RSD), porcentaje de error (%Er), porcentaje de recuperación (%R) y paramétrico (test de Grubbs para rechazo de datos anómalos y significancia “contaste F y prueba t para dos colas”).

5.8.1. Media aritmética

Se define como la suma de una serie de individuos dividida por el número de individuos considerados. (Jurado, 2008)

Ecuación 1. Fórmula media aritmética

$$\bar{X} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n X_i = \left(\frac{X_1 + X_2 + \dots + X_n}{n} \right)$$

5.8.2. Desviación estándar y desviación estándar relativa

La desviación estándar es un parámetro que da cuenta de la dispersión de los datos obtenidos y se calcula con la **Ecuación 2**. Al cuadrado de la desviación estándar se le denomina varianza. A partir de la desviación estándar se puede también calcular el coeficiente de variación o desviación estándar relativa

Ecuación 3, que es una medida del error relativo y se usa para comparar resultados medidos en distintas escalas (Jurado, 2008).

Ecuación 2. Fórmula para el cálculo desviación estándar (SD)

$$SD = \sqrt{\sum_{i=1}^n (x - \bar{x}_i)^2 / n - 1}$$

Ecuación 3. Fórmula para el cálculo desviación estándar relativa (RSD)

$$RSD = \frac{\text{Desviación estandar}}{\text{Promedio}} \times 100$$

5.8.3. Porcentaje de error

Se define como la diferencia entre el resultado de medida y el valor real y se calcula según la **Ecuación 4** (Compañó y Ríos, 2002) citado por (Rodríguez, Pellerano, Romero, Acevedo, & Vázquez, 2012)

Ecuación 4. Fórmula para el cálculo de porcentaje de error

$$\%E_r = \frac{X_i - X_v}{X_v} * 100$$

5.8.4. Porcentaje de recuperación

Es una comparación de la concentración de la muestra adicionada con la concentración de misma muestra sin adición y se calcula por medio de la **Ecuación 5** (INVEMAR, 2018b)

Ecuación 5. Fórmula para el cálculo de porcentaje de recuperación

$$\%R = \frac{\bar{c}_x - c_y}{c_a} \times 100$$

Dónde: C_x = Concentración promedio de las determinaciones

C_y = Concentración de la muestra o del blanco

C_a = Concentración real

5.8.5. Test de Grubbs para rechazo de datos anómalos

Para analizar si existe algún dato dudoso que pueda afectar el desempeño de la prueba. Consiste en calcular el T para los valores extremos de cada grupo (valor máximo y valor mínimo) de la siguiente manera: Calcular el T para el valor alto según la **Ecuación 6** y bajo de acuerdo a la **Ecuación 7** (INVEMAR, 2018b).

Ecuación 6. fórmula para calcular el t máximo

$$T = \frac{x_{alto} - \bar{x}}{s}$$

Ecuación 7. fórmula para calcular el t mínimo

$$T = \frac{\bar{x} - x_{bajo}}{s}$$

5.8.6. Prueba F de Snedecor – Fisher para dos colas

Es una prueba estadística empleada para la comparación de varianzas, se considera la hipótesis nula de que las varianzas no presentan diferencias significativas entre sí (Jurado, 2008). El valor F experimental se calcula según la **Ecuación 8**.

Ecuación 8. Cálculo del valor F experimental

$$F = s_1^2/s_2^2$$

Por lo anterior la expresión F siempre será ≥ 1 . Si el valor de F experimental excede el valor F crítico teórico (ver **Anexo 1**), se rechaza la hipótesis nula. Los valores F críticos y $P=0.05$ siendo P la probabilidad, es decir, al 95% de confianza para contrastes de dos colas (INVEMAR, 2018b).

5.8.7. Prueba t student para dos muestras suponiendo medias iguales

En esta prueba se comparan dos medias experimentales muestrales \bar{x}_1 y \bar{x}_2 , tomando la hipótesis nula de que los dos grupos que proporcionan el mismo resultado, es decir $H_0: \mu_1 = \mu_2$, se prueba si $(\bar{x}_1 - \bar{x}_2)$ difiere significativamente de cero. Se puede calcular una estimación conjunta de la desviación estándar s , a partir de las dos desviaciones estándar individuales s_1 y s_2 (INVEMAR, 2018b).

Ecuación 9. Fórmula para calcular t

$$t = \frac{(\bar{x}_1 - \bar{x}_2)}{s * \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}}$$

Donde s se calcula a partir de:

Ecuación 10. Fórmula para calcular s

$$s^2 = \frac{(n_1 - 1)s_1^2 + (n_2 - 1)s_2^2}{(n_1 + n_2 - 2)}$$

Y t/t tiene $n_1 + n_2 - 2$ grados de libertad (Ver anexo 1): Si t crítico de la tabla es $>$ que el t_{n-2} calculado se acepta la hipótesis nula, no habiendo diferencias entre las medias muestrales de las dos series de datos (INVEMAR, 2018b).

En la **Figura 4** se presenta el esquema del diseño metodológico general del presente proyecto el cual permitió el cumplimiento del 100% de los objetivos planteados.

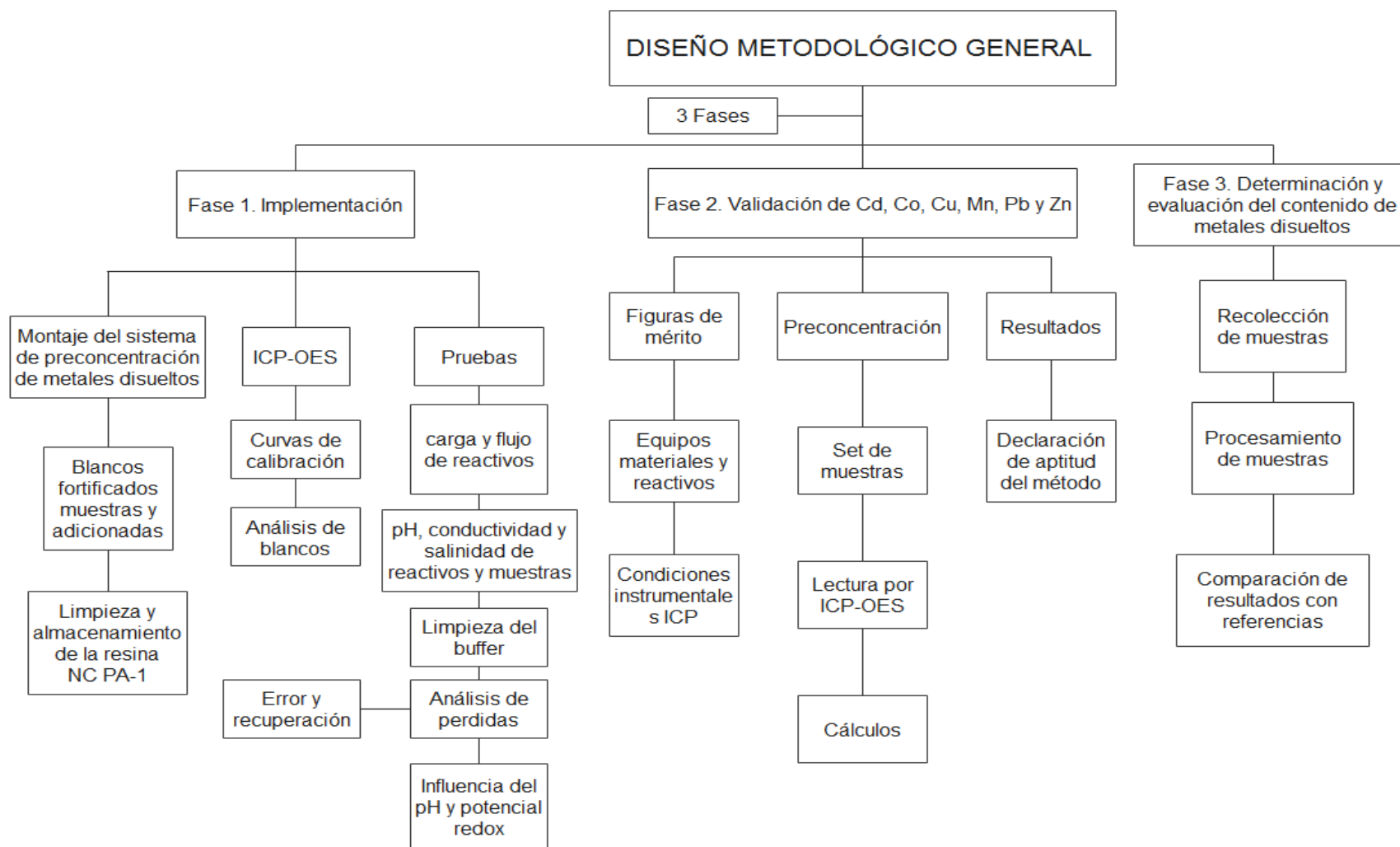


Figura 4. Esquema del diseño metodológico general.

Fuente: Autor

6. FASE 1 - IMPLEMENTACIÓN DE TÉCNICA DE EXTRACCIÓN Y PRECONCENTRACIÓN MANUAL DE METALES DISUELTOS EN MUESTRAS DE AGUA MARINA CON LA RESINA *NC PA-1*

En la fase 1, se describe de forma detallada, los procedimientos para realizar el montaje del sistema manual de inyección, la preconcentración y limpieza de blancos y muestras de mar a partir de la resina *NC PA-1*, limpieza y almacenamiento de la resina, elaboración de curvas de calibración de Cd, Co, Cu, Mn, Pb, y Zn. Adicionalmente se encuentran las pruebas realizadas para optimizar el procedimiento de preconcentración y limpieza, en las cuales se evaluaron parámetros fisicoquímicos de los reactivos y las muestras de mar tales como pH, conductividad, salinidad y potencial redox, inyección manual con jeringa y por gravedad, limpieza del buffer $\text{HAcO-NH}_4\text{AcO}$ 0,05 M (pH 6), metales disueltos estudiados en agua desionizada, solución de HNO_3 1 M y una serie de pruebas de error y recuperación a partir de blancos fortificados y muestras de mar con adicionados conocidos. Posteriormente, se realizó un análisis cuantitativo, empleando estadística descriptiva con la herramienta complementaria del software Excel para estadística paramétrica, que permitió determinar la eficiencia de la resina en la extracción individualmente para cada elemento estudiado. Finalmente se presentan las conclusiones a las cuales se llegó al respecto.

6.1. Descripción metodológica Fase 1

La metodología desarrollada por Sohrin et al. (2008); Quérroué et al. (2014); Minami et al. (2015) y Tanaka et al. (2019) se ajustan a los requisitos analíticos de interés: son metodologías aplicables para análisis multielemental, emplea una cantidad pequeña de resina quelante, por lo tanto, requiere un volumen reducido de reactivos, se extraen y concentran los metales objetivo en un solo procedimiento y la cuantificación puede

realizarse por ICPMS, ICP-OES y/o AA. Por estas razones fue seleccionada como metodología de referencia para realizar la implementación y validación requeridas para determinar la concentración de metales disueltos en agua de mar y finalmente llevar a cabo la evaluación de los resultados por comparación con las tablas de referencia para efectos agudos o crónicos sobre la biota marina (SQUIRTs) de la Administración Nacional de EUA para los Océanos y la Atmósfera (NOAA) (Buchman, 2008) y los criterios de calidad del agua recomendados por la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA, 2016). Sin embargo, teniendo en cuenta que en este estudio la extracción y preconcentración de la muestra se realizó con un sistema manual a diferencia de Sohrin et al. (2008) quienes la realizaron con un sistema automatizado, fue necesario realizar pruebas y actividades preliminares establecidas con la asesoría de un experto en química del INVEMAR, presentadas en la **Tabla 3**, y cuyas descripciones se encuentran del literal 6.1.5 al 6.1.12 de este documento.

Tabla 3. *Criterios de aceptación de pruebas preliminares*

Prueba o actividad	Replicas	Criterio de aceptación u observación
Curvas de calibración de Cd, Co, Cu, Mn, Pb y Zn disueltos	3	Coeficiente de correlación (r) $\geq 0,995$
Prueba carga y flujo inyección manual con jeringa	10	> Eficiencia: tiempo, seguridad, confiabilidad del resultado
Prueba carga y flujo inyección manual por gravedad	3	
Prueba de pH de reactivos y muestras	3	Rango pH:(6,00 - 6,05)
Prueba de salinidad de reactivos y muestras	3	Observar disminución o aumento
Análisis de blancos	10	valores por debajo del límite inferior de trabajo
Prueba 1 limpieza del buffer	3	Máxima remoción de metales disueltos
Prueba 2 limpieza del buffer	3	
Prueba 3 limpieza del buffer	3	
Prueba 1 de error y recuperación	3	Error: QC-1 < 15% QC-2 < 10% Recuperación: (60 – 110) %
Prueba 2 de error y recuperación	3	
Prueba 3 de error y recuperación	10	
Prueba 4 de error y recuperación	4	
Prueba 1 de análisis de pérdidas	3	Identificación de pérdidas de analitos

Prueba 2 de análisis de pérdidas	3	
Prueba de la influencia del pH y potencial Redox en la determinación de metales disueltos	3	Identificación de estados de oxidación de analitos

Fuente: Autor a partir de (INVEMAR, 2018b)

6.1.1. Montaje del sistema de extracción y preconcentración manual

El montaje para extracción y concentración manual de metales disueltos en agua de mar, se realiza según el esquema presentado en la **Figura 5**.

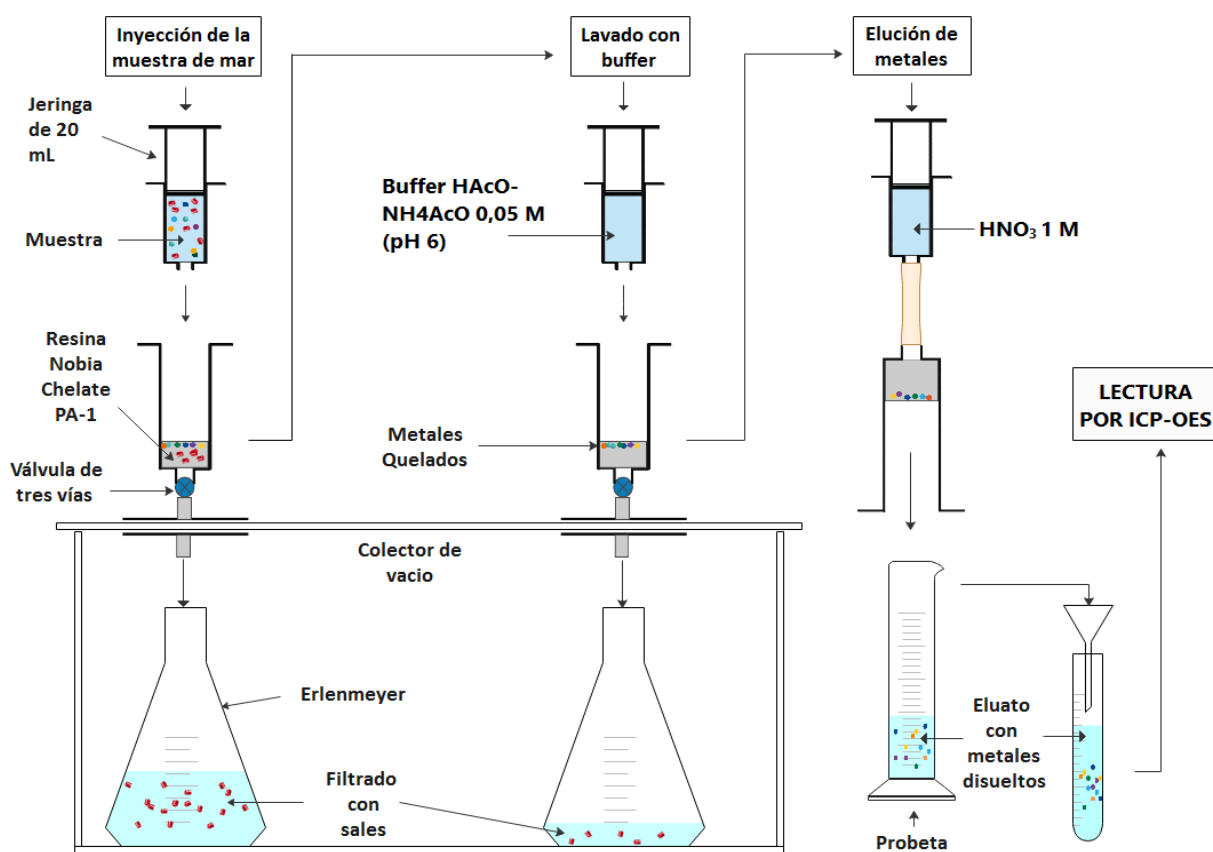


Figura 5. Montaje de preconcentración y limpieza de muestras de mar.

Fuente: Auto

Como se observa en la **Figura 5** Inicialmente, se usó un colector de vacío como base, y una válvula plástica de tres vías para controlar el paso de reactivos y las muestras

que fueron inyectadas con una jeringa de 20 mL a través de la resina NC PA-1. El procedimiento se muestra en el **Diagrama 1**.

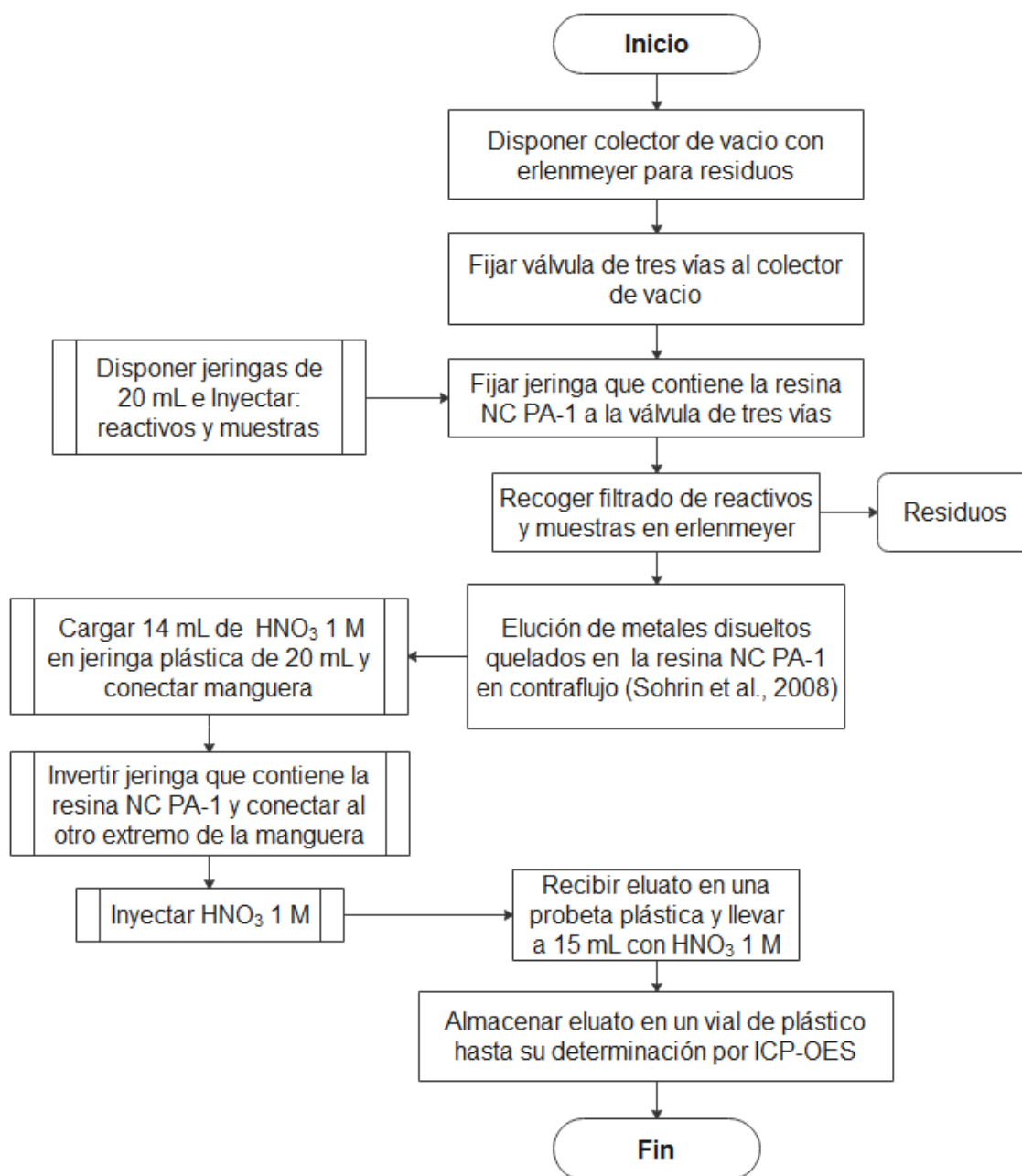


Diagrama 1. Procedimiento para montaje del sistema de preconcentración manual con el uso de resina NOBIAS Chelate PA-1.

Fuente: Autor, adaptado de (Sohrin et al., 2008)

6.1.2. Procedimiento para extracción y preconcentración de blancos

En el **Diagrama 2**, se expone el procedimiento para preconcentración de blancos.

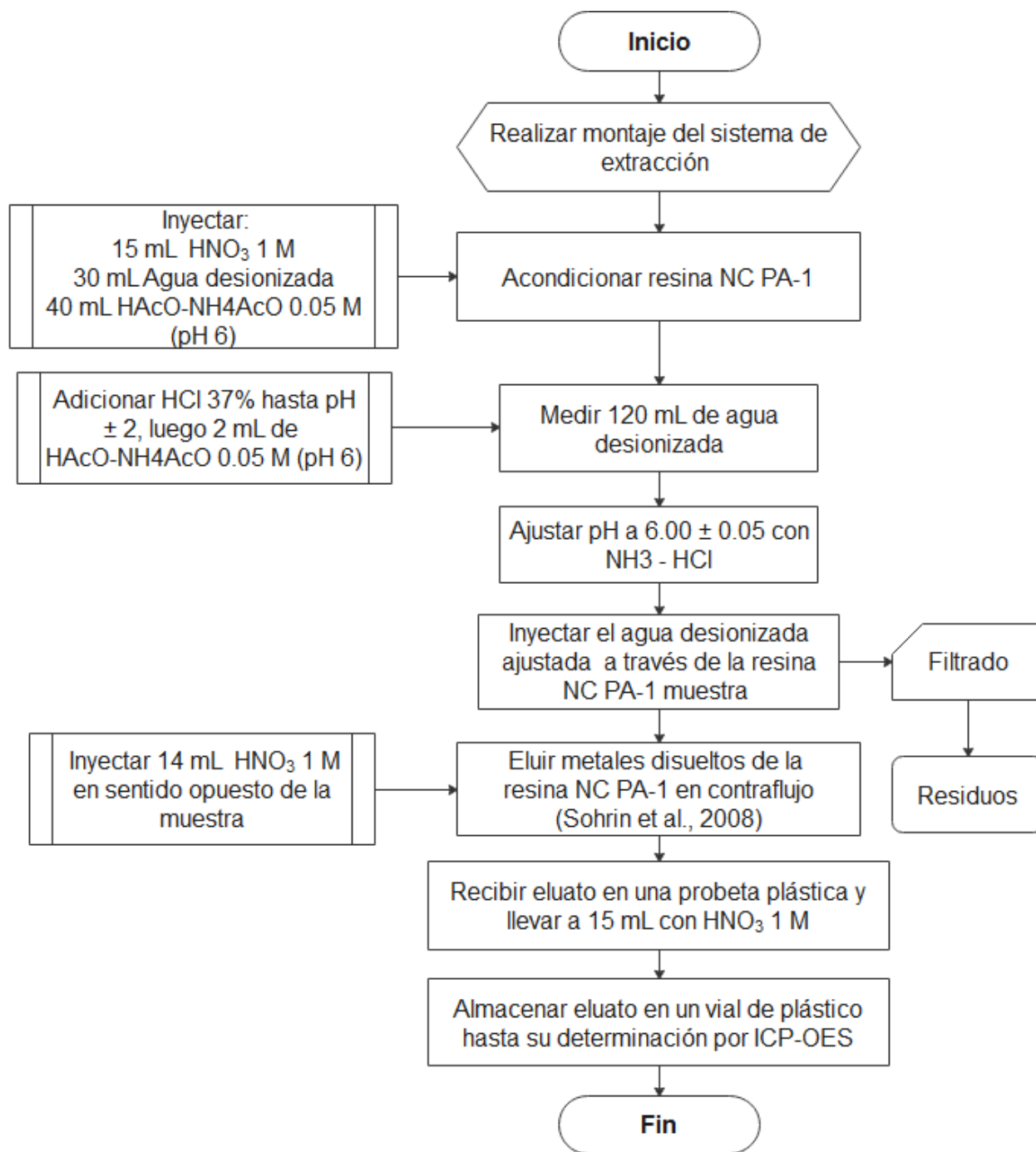


Diagrama 2. Procedimiento para extracción y preconcentración de blancos

Fuente: Autor, adaptado de (Sohrin et al., 2008)

6.1.3. Procedimiento para extracción de muestras de agua marina

En el **Diagrama 3**, se expone el procedimiento para preconcentración de blancos.

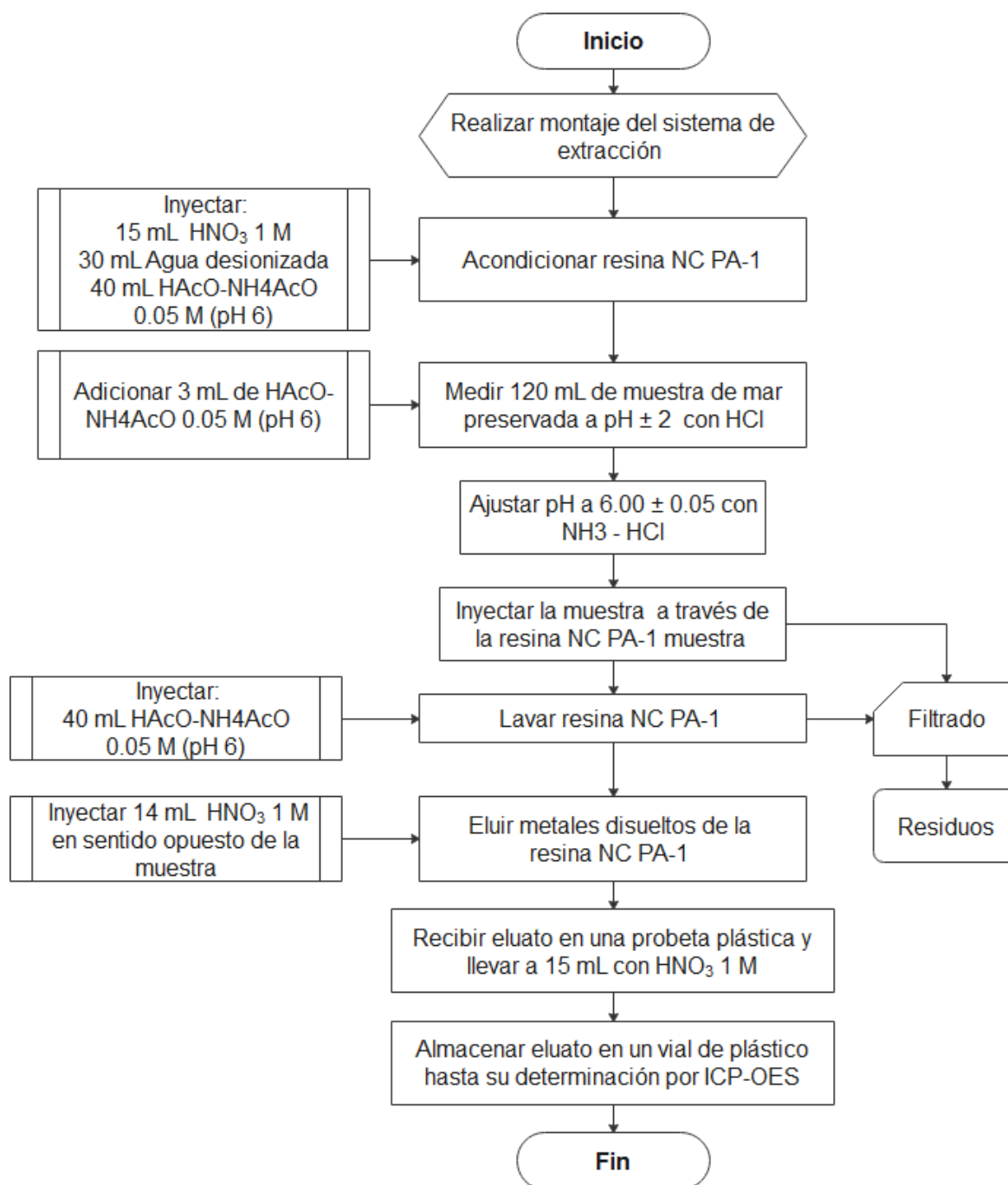


Diagrama 3. Procedimiento para extracción de muestras de agua marina

Fuente: Autor, adaptado de (Sohrin et al., 2008)

El factor de concentración¹ se calculó mediante la siguiente fórmula:

Factor de concentración (FC) = Volumen de muestra (mL) / Volumen del extracto (mL)

$$FC = 120 / 15$$

$$FC = 8^2$$

6.1.4. Procedimiento de limpieza de la resina NC PA-1

En el **Diagrama 4**, se expone el procedimiento para preconcentración de blancos.

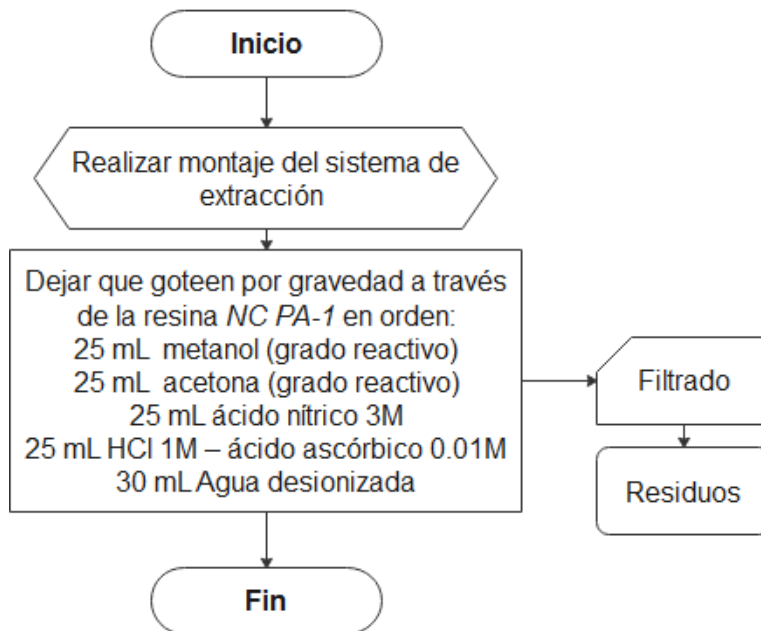


Diagrama 4. Procedimiento de limpieza de la resina NC PA-1

Fuente: Autor, adaptado de Sohrin et al., (2008); (Tanaka, Tusujizaca, Zheng, Takano, & Sohrin, 2019)

¹ El factor de concentración se puede aumentar teniendo en cuenta la formula anterior, es decir, aumentando el volumen de la muestra y manteniendo constante el volumen de extracto. La inyección manual de los reactivos y las muestras a través de la resina se realiza con jeringas plásticas de 20 mL.

² Nota: El factor de concentración se puede aumentar teniendo en cuenta la fórmula anterior, es decir, agrandando el volumen de la muestra y manteniendo constante el volumen de extracto. La inyección manual de los reactivos y las muestras a través de la resina se realiza con jeringas plásticas de 20 mL.

En el procedimiento de limpieza de la resina NC PA-1, es muy importante que todos reactivos utilizados (ver **Diagrama 4**) goteen por gravedad³. En ese momento la resina se quedará limpia y lista para su uso⁴.

6.1.5. Almacenamiento de la resina NC PA-1

Al finalizar la extracción y concentración de muestras blancos y estándares, se inyecta a través de la resina 15 mL de HNO₃ 1M, 30 mL de agua desionizada y 40mL de buffer HAcO-NH₄AcO 0.05 M (pH 6), posteriormente se carga la jeringa que contiene la resina con HAcO-NH₄AcO 0.05 M (pH 6) y se cierra la válvula de paso con el fin que la resina se mantenga en contacto con esta solución a pH 6. Por último, se cubre la parte superior de la jeringa, que contiene la resina, con plástico para evitar la entrada de polvo u otro material que contamine la resina.

6.1.6. Curvas de calibración de metales disueltos.

Para cumplir con el alcance de este proyecto, se realizaron curvas de calibración para determinar las concentraciones de Cd, Co, Cu, Mn, Pb y Zn disueltos en extractos obtenidos con la resina NC PA -1 en las concentraciones indicadas en la **Tabla 4**.

Tabla 4. Estándares mixtos de las curvas de calibración de metales disueltos (µg/L)

STD	Cd	Co	Cu	Mn	Pb	Zn
1	3,00	3,00	20,0	3,00	30,0	30,0
2	5,00	5,00	30,0	5,00	60,0	60,0
3	10,0	10,0	60,0	10,0	100	100
4	20,0	20,0	100	20,0	300	300

³ Se siguió el procedimiento de limpieza descrito por Sohrin et al. (2008). Sin embargo, en este no se registran los volúmenes usados; por ello se adoptan los volúmenes usados por (Tanaka et al., 2019)

⁴ Se realiza el mismo procedimiento a otra jeringa con la resina para la limpieza del buffer HAcO-NH₄AcO 0,05 M (pH 6).

STD	Cd	Co	Cu	Mn	Pb	Zn
5	30,0	30,0	300	30,0	500	500
6	60,0	60,0		60,0		
7	100	100		100		
8	300	300		300		
λ	228,802	238,892	324,754	257,610	220,353	213,856
VRS	7,90	1,00	3,10	100	8,10	81,0

VRS: Valores de referencia tabla SQuiRTz ($\mu\text{g/L}$). λ : Longitud de onda (nm). Fuente: Autor

6.1.6.1. *Procedimiento.* Se prepararon soluciones intermedias de 10 mg/L de cada metal por dilución, a partir de patrones NIST de 1000 mg/L usando solución de HNO_3 0.5 M como solvente. Partiendo de las soluciones intermedias se prepararon ocho estándares mixtos con las concentraciones de los metales disueltos expuestas en la **Tabla 4** para la elaboración de las curvas de calibración en $\mu\text{g/L}$. Allí, también se indican las longitudes de onda y los valores de referencia, según Screening Quick Reference Tables (SQuiRTs) de la Administración Nacional Oceánica y Atmosférica de EUA (NOAA) (Buchman, 2008).

6.1.7. Prueba de carga y flujo de reactivos

La carga se refiere al volumen (mL) de cada reactivo que se inyecta a través de la resina *NC PA-1*, durante el procedimiento de extracción y preconcentración; por otra parte, el flujo es el volumen de reactivo que sale de la columna por unidad de tiempo (mL/min). El objetivo de esta prueba fue estimar el flujo de cada reactivo, para compararlo con los flujos usados en la metodología de referencia de Sohrin et al. (2008) y también calcular el tiempo gastado en el procedimiento de extracción y preconcentración por cada muestra.

6.1.7.1. *Procedimiento.* Se realizó la extracción y concentración de 13 blancos, siguiendo el Procedimiento para extracción y preconcentración de blancos (10 réplicas

por inyección manual con jeringa y 3 réplicas por gravedad), para todas las réplicas, se registró el tiempo que gastó cada reactivo, en pasar completamente a través de la columna.

6.1.8. Prueba de pH, conductividad y salinidad de reactivos y muestras

La prueba se realizó principalmente con tres objetivos: primero determinar la variación de pH en el blanco (agua desionizada), buffer HAcO-NH₄AcO 0.05 M (pH 6), blanco fortificado y muestra de agua de mar, durante el procedimiento de la extracción y concentración; segundo, demostrar la eliminación de sales residuales en la resina *NC PA-1*, tras el paso de la muestra de mar, con el lavado del buffer, antes de la elución de los metales disueltos; y tercero, analizar blancos acidificados a pH < 2 con (HCl 37 % y HNO₃ 65 %) para descartar contaminación con metales disueltos en los ácidos.

Los componentes analizados y el volumen por replica, fueron:

- Blanco: Agua desionizada (200mL)
- Muestra de mar: Agua de la Bahía de Santa Marta (200mL)
- Blanco fortificado: Agua desionizada a pH < 2 + adicionado conocido (200mL)
- Buffer: HAcO-NH₄AcO 0,05 M (pH 6) (40mL)

6.1.8.1. Procedimiento. Se determinó pH, conductividad y salinidad en el agua desionizada y el buffer HAcO-NH₄AcO 0.05 M (pH 6). Posteriormente se midieron 3 réplicas de cada componente en vasos de precipitados de 250 mL, se ajustó el pH a 6.00 ± 0.05 con HNO₃ y NH₃; luego se taparon con papel plástico. Al siguiente día se realizó lectura de pH, conductividad y salinidad a las 3 réplicas de cada componente, antes y después de la inyección a través de la resina *NC PA-1*, finalmente, el eluato de cada replica, se almacenó en viales plásticos hasta su posterior determinación de metales disueltos por ICP-OES.

Por otra parte, se preparó por triplicado, soluciones de HNO_3 (0.5 y 1.0) M, agua desionizada llevada a $\text{pH} < 2$ con HNO_3 concentrado suprapur y agua desionizada llevada a $\text{pH} < 2$ con HCl concentrado grado reactivo; para finalizar, se determinaron metales disueltos por lectura directa en el ICP-OES.

6.1.9. Análisis de blancos

Se realizó análisis de 10 réplicas de la solución de HNO_3 1 M sin preconcentración y 10 réplicas de agua desionizada con preconcentración (FC: 8), con el objetivo de determinar si los reactivos usados aportan concentración significativa de metales disueltos. En el diagrama **Diagrama 5**, se especifica el procedimiento de la prueba.

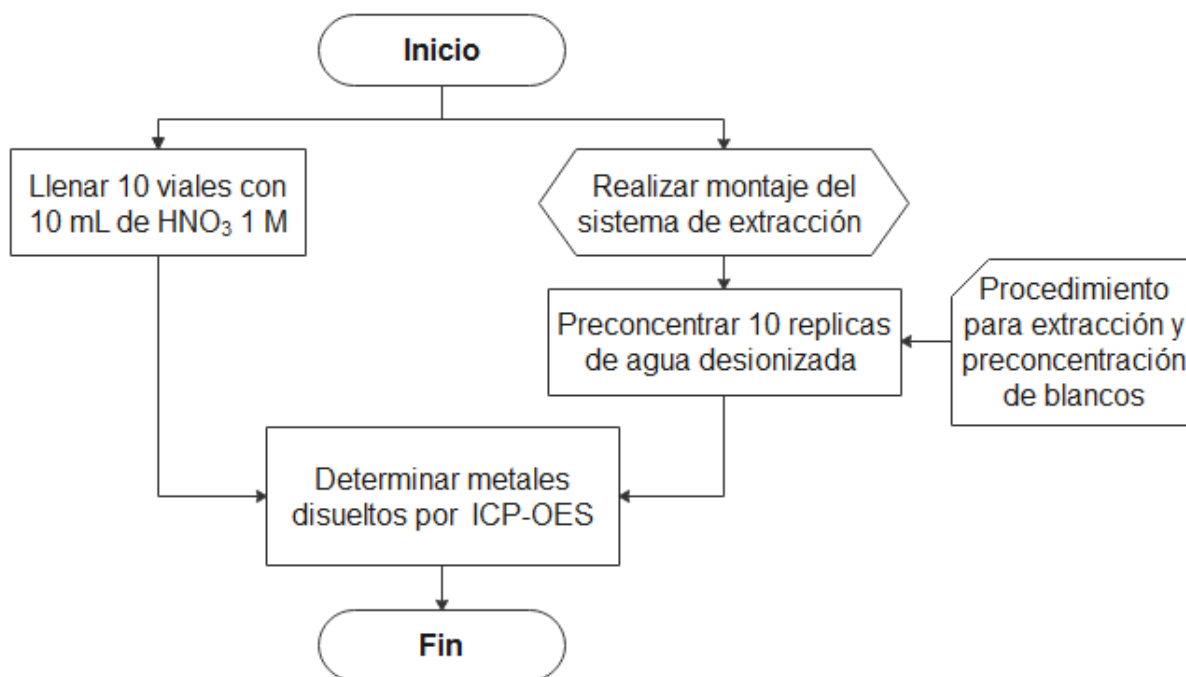


Diagrama 5. Esquema del procedimiento de prueba de análisis de blancos

Fuente: Autor

6.1.10. Pruebas de limpieza del buffer HAcO-NH₄AcO 0.05 M (pH 6)

El buffer HAcO-NH₄AcO 0.05 M (pH 6), es usado para acondicionar la columna a pH 6, antes de la inyección de la muestra y para lavar las sales restantes en la resina después de la inyección de la muestra, antes de la elución de los metales con HNO₃. Por lo anterior se realizaron pruebas con el objetivo de comprobar experimentalmente, la limpieza del buffer, filtrándolo dos veces por la resina *NC PA-1*.

6.1.10.1. *Procedimiento prueba 1.* Se inyectó a través de la resina *NC PA-1*, un litro de buffer HAcO-NH₄AcO 0.05 M (pH 6), luego se realizó la elución en sentido contrario, con 15 mL de HNO₃ (eluato 1), y se determinó la cantidad de metales disueltos removidos. Después se adecuó nuevamente la columna, se inyectó por segunda vez el mismo litro de buffer a través de la resina *NC PA-1*, se realizó la elución en sentido contrario con 15 mL de HNO₃ (eluato 2), y se determinó la cantidad de metales disueltos removidos en la segunda limpieza.

6.1.10.2. *Procedimiento Prueba 2.* Se preparó 1 L de buffer HAcO-NH₄AcO 0.05 M (pH 6), se inyectó dos veces consecutivas, a través de la resina *NC PA-1*, se realizó la elución en sentido contrario con 15 mL de HNO₃ (eluato 3), y se determinó la cantidad de metales disueltos removidos.

6.1.10.3. *Procedimiento prueba 3.* Se limpió 1 litro de buffer HAcO-NH₄AcO 0.05 M (pH 6) 4 veces, para ello se acondicionó la columna antes de cada limpieza, y se almacenó el eluato de 15 mL de HNO₃ 1 M después de cada una de ellas; finalmente se analizaron los eluatos obtenidos (4), el buffer sin limpiar y después de cada limpieza.

6.1.11. Pruebas de error y recuperación

Para asegurar la calidad de los resultados, se evaluaron figuras de mérito como exactitud y veracidad, representadas como porcentaje de error y porcentaje de recuperación respectivamente. Para ello, se calcularon porcentajes de error a estándares de control, de concentraciones conocidas, con el objetivo de evaluar la confiabilidad de las curvas de calibración y el correcto funcionamiento del equipo de Espectrometría de Emisión Atómica con Plasma Acoplado Inductivamente (ICP-OES). Además, el procedimiento de preconcentración con la resina NC PA-1 fue evaluado a partir de los porcentajes de recuperación de blancos fortificados y adicionados conocidos en muestras reales de matriz marina, con el propósito de comprobar la selectividad y eficiencia de la columna de resina NC PA-1 en cuanto a la extracción de metales disueltos.

6.1.11.1. Prueba 1 de error y recuperación. En esta prueba inicial, se usó agua desionizada para la preparación de los reactivos, blanco concentrado y blanco fortificado. Se prepararon soluciones de concentración baja y alta de los metales disueltos de interés a partir de certipur de 1000 mg/L, en adelante llamadas “QC-1 y QC- 2” respectivamente, usando HNO_3 0.5 N como disolvente, este último fue además analizado como “blanco de curva” para comprobar la ausencia de metales, luego se analizó una muestra de mar proveniente de Bahía Chengue con FC: 8 y sus adicionados de concentraciones baja y alta conocidas.

Procedimiento: El blanco de curva, QC-1 y QC-2, se analizaron directamente. Por otra parte, el blanco, blanco fortificado, muestra de mar proveniente de bahía Chengue y sus adicionados, fueron preconcentrados, antes de la determinación de metales, para ello, inicialmente se preparó la resina pasando a través de ella 15 mL de HNO_3 1 M, 30 mL de agua desionizada microfiltrada y 40 mL de buffer $\text{HAcO-NH}_4\text{AcO}$ 0.05 M (pH 6), después se midieron 120 mL de muestra, se adicionó 2 ml de buffer $\text{HAcO-NH}_4\text{AcO}$ 0.05

M (pH 6) y se ajustó a pH 6.00 ± 0.05 con NH_3 y HNO_3 , luego la muestra se inyectó manualmente, por medio de una jeringa plástica, a través de la resina, posteriormente se inyectó 40 mL de Buffer 0.05M (pH:6,0) para eliminar sales residuales en la resina y finalmente se inyectó en sentido inverso 15 mL de HNO_3 1 M, este eluato se almacenó en un vial de plástico. Se repitió el procedimiento hasta completar todos los eluatos y finalmente se analizan por ICP - OES.

6.1.11.2. *Prueba 2 de error y recuperación.* En esta prueba, se prepararon soluciones de concentración baja de los metales disueltos de interés a partir de certipur de 1000 mg/L, “QC-1”, usando HNO_3 (0.5 y 1) N como disolvente; adicionalmente se analizaron blancos preconcentrados con FC: 13.3 y blancos fortificados con concentraciones bajas. El procedimiento de preconcentración se realizó por triplicado para cada muestra.

Procedimiento: Los QC-1, en HNO_3 (0.5 y 1) N se analizaron directamente. Por otra parte, los blancos concentrados y blancos fortificados, fueron preconcentrados, antes de la determinación de metales, para ello, inicialmente se preparó la resina pasando a través de ella 15 mL de HNO_3 1 M, 30 mL de agua desionizada microfiltrada y 40 mL de Buffer $\text{HAcO-NH}_4\text{AcO}$ 0.05 M (pH 6), después se midió 200 mL de muestra, se adicionó 3 ml de buffer $\text{HAcO-NH}_4\text{AcO}$ 0,05 M (pH 6) y se ajustó a pH 6.00 ± 0.05 con NH_3 y HNO_3 , luego la muestra se inyectó manualmente, por medio de una jeringa plástica, a través de la resina NC PA-1 y finalmente se inyectó en sentido inverso 15 mL de HNO_3 1M, este eluato se almacenó en un vial de plástico. Se repitió el procedimiento hasta completar todos los eluatos y finalmente se analizaron por ICP-OES.

6.1.11.3. *Prueba 3 de error y recuperación.* Para esta prueba se prepararon nuevamente los estándares de control QC-1 (valores de los límites inferiores de trabajo para cada metal disuelto), QC-2 (rango alto) y se analizaron dos muestras de agua de

mar; la primera, proveniente de la bahía de Santa Marta con FC:1 y adicionado concentración conocida de hierro disuelto, y la segunda, del océano abierto a 80 km de la bahía de Santa Marta con FC: 13.3 a la cual se le realizó adicionado de concentración conocida de todos los metales de interés.

Procedimiento: Los nuevos QC-1 y QC-2 preparados en HNO_3 0.5 N se analizaron directamente. Por otra parte, las muestras provenientes de la bahía de Santa Marta y océano abierto y sus adicionados, fueron preconcentradas, antes de la determinación de metales. Para la muestra de la bahía de Santa Marta y su adicionado de concentración conocida de hierro disuelto (FC:1), inicialmente se preparó la resina pasando a través de ella 15 mL de HNO_3 1 M, 30 mL de agua desionizada microfiltrada, luego se midió 15 mL de muestra, se adicionó 0.2 ml de buffer $\text{HAcO-NH}_4\text{AcO}$ 0.05 M (pH 6) y se ajustó a pH 6.00 ± 0.05 con amoníaco y HNO_3 , luego la muestra se inyectó manualmente, por medio de una jeringa plástica, a través de la resina, posteriormente se inyectó 5 mL de Buffer $\text{HAcO-NH}_4\text{AcO}$ 0.05 M (pH 6), para eliminar sales residuales en la resina y por último se realizó la elución de los metales con 15 mL de HNO_3 en sentido contrario de la muestra. Por otra parte para la muestra de océano abierto y sus adicionados (FC:13.3) se midieron 200 mL de muestra, se adicionó 3 ml de buffer $\text{HAcO-NH}_4\text{AcO}$ 0.05 M (pH 6) y se ajustó a pH 6.00 ± 0.05 con NH_3 y HNO_3 , luego la muestra se inyectó manualmente, por medio de una jeringa plástica, a través de la resina, posteriormente se inyectó 40 mL de Buffer $\text{HAcO-NH}_4\text{AcO}$ 0.05 M (pH 6) para eliminar sales residuales en la resina y por último se realizó la elución de los metales con 15 mL de HNO_3 en sentido contrario de la muestra. Se repitió el procedimiento hasta completar todos los eluatos y finalmente se analizaron por ICP-OES.

6.1.11.4. Prueba 4 de error y recuperación. En esta prueba, se analizaron soluciones de control de calidad QC-1 y QC-2, también la muestra de océano abierto y un adicionado

de concentración alto, con el objetivo de establecer la eficiencia de la columna en muestras de mar con concentraciones de metales disueltos altos.

Procedimiento: Los QC-1 y QC-2 preparados en HNO_3 0.5 N se analizaron directamente. Por otra parte, la muestra de océano abierto y su adición alto, fueron preconcentradas, (FC:13,3), para ello, se midieron 200 mL de muestra, se adicionó 3 mL de buffer $\text{HAcO-NH}_4\text{AcO}$ 0.05 M (pH 6) y se ajustó a $\text{pH } 6.00 \pm 0.05$ con amoníaco y HNO_3 , luego la muestra se inyectó manualmente, por medio de una jeringa plástica, a través de la resina, posteriormente se inyectó 40 mL de buffer $\text{HAcO-NH}_4\text{AcO}$ 0.05 M (pH 6) para eliminar sales residuales en la resina y por último, se realizó la elución los metales con 15 mL de HNO_3 en sentido contrario de la muestra. Se repitió el procedimiento hasta completar todos los eluatos y finalmente se analizaron por ICP-OES.

6.1.12. Prueba de análisis de pérdidas

Con el objetivo de identificar las causas que llevaron a que los porcentajes de recuperación de fueran más altos en Cd, Cu, Pb y Zn que en Co y Mn disueltos en agua de mar, se diseñó esta prueba⁵ para identificar las pérdidas de los analitos durante el procedimiento, la cual se presentan a continuación:

Procedimiento: Se preparó por triplicado, un blanco fortificado con metales disueltos de concentración alta, posteriormente se cuantificó por ICP-OES, en las siguientes etapas del procedimiento de concentración (FC:13.3), con el fin de evaluar la eficiencia de la resina NC PA-1:

⁵ Fue diseñadas en este estudio para establecer el origen de los bajos porcentajes de recuperación en algunos metales disueltos

1. Blanco fortificado (Agua desionizada con adición de concentración de metales disueltos conocida), pH ajustado a 6.00 ± 0.05 .
2. Filtrado de (1) después de pasar a través de la resina NC PA-1
3. Buffer HAcO-NH₄AcO 0.05 M (pH 6), filtrado por la resina (lavado), antes de la elución con HNO₃
4. Blanco fortificado preconcentrado, sin lavado con buffer (dilución 10).
5. Blanco fortificado preconcentrado, con lavado con buffer (dilución 10).

Procedimiento: Inicialmente, se preparó 2 litros de blanco fortificado con concentración alta, a partir de certipur de 1000 mg/L de cada uno de los metales, usando agua desionizada como solvente, luego se adicionó 34 ml de buffer HAcO-NH₄AcO 0.05 M (pH 6) y se ajustó a $pH\ 6.00 \pm 0.05$ con NH₃ y HNO₃, (en este punto se llenaron tres viales de 15 mL con el blanco fortificado ajustado a $pH\ 6.00 \pm 0.05$), luego se midieron 200 mL y se inyectó manualmente, por medio de una jeringa plástica, a través de la resina (el filtrado se recogió en un erlenmeyer y se llenó un vial de 15 mL y el resto se descartó), posteriormente se inyectó 40 mL de Buffer HAcO-NH₄AcO 0.05 M (pH 6) empleado en muestras de mar para eliminar sales residuales en la resina (en este caso no hay exceso de sales porque se trata de un blanco fortificado. Sin embargo, se incluye este paso a tres replicas, para determinar si afecta la recuperación de los metales disueltos) y por último se realizó la elución de los metales con 15 mL de HNO₃ en sentido contrario de la muestra. Se repitió el procedimiento hasta completar todos los eluatados, se analizaron tres replicas adicionales sin lavado con 40 mL de Buffer HAcO-NH₄AcO 0.05 M (pH 6) y finalmente se analizan por ICP-OES. Todas las muestras se analizaron por triplicado.

6.1.13. Prueba de la influencia del pH y potencial Redox en la determinación de metales disueltos

En esta prueba se llevó a $pH < 2$, un blanco fortificado y una muestra de mar con adicionados de concentraciones altas de metales disueltos, luego se ajustó el pH a 6.00

± 0.05 y por último se llevó nuevamente a $\text{pH} < 2$. Se tomaron muestras en cada ajuste de pH, se midió el potencial redox y se analizó sin preconcentración el blanco fortificado por ICP-OES, con el objetivo conocer experimentalmente la influencia dichos parámetros en la concentración de los metales disueltos en estudio. Finalmente, los valores de potencial redox E_0 (V), obtenidos a los pH mencionados anteriormente se graficaron en diagramas de Pourbaix, para establecer teóricamente el estado de los iones en los sistemas metal-agua a 25°C de los elementos en estudio.

6.1.13.1. *Procedimiento.* Se preparó 1 litro de blanco fortificado y 1 litro de muestra de mar con adicionados de concentración alta, a partir de soluciones certipur de 1000 mg/L de los metales de interés, empleando agua destilada como solvente para el blanco fortificado; se adicionó HNO_3 concentrado hasta $\text{pH} < 2$ (se midió potencial redox de las soluciones, se llenaron 3 viales plásticos de 15 ml de cada una y se almacenaron hasta su análisis), luego se ajustó el pH a 6.00 ± 0.05 con NH_3 y/o HNO_3 (se midió potencial redox de las soluciones, se llenaron 3 viales plásticos de 15 ml de cada una y se almacenaron hasta su análisis), por último se llevó nuevamente a $\text{pH} < 2$ con HNO_3 concentrado (se midió potencial redox de las soluciones, se llenaron 3 viales plásticos de 15 ml de cada una y se almacenan hasta su análisis), finalmente se determinó la concentración de metales disueltos por ICP-OES.

6.2. Resultados y discusión fase 1

En este apartado se encuentran los resultados obtenidos en las pruebas preliminares realizadas en la fase 1. Después de probar la eficiencia de la resina *NC PA-1* en la extracción de metales disueltos en blancos fortificados y muestras de mar con adicionados conocidos a $\text{pH} 6.00 \pm 0.05$ de 13 metales disueltos, se encontró que siete de estos no cumplieron con los criterios de aceptación de veracidad (ver **Tabla 3**) en términos de recuperación: Ag (19.0 a 56.1) %, Al (31.2 a 55.8) %, Ba (0.88 a 6.87) %, Cr

(5.40 a 67.2), Fe (12.98 a 98.8), Ni (45.8 a 77.4) % y V (35.5 a 59.5) %. Los seis metales disueltos restantes (Cd, Co, Cu, Mn, Pb, y Zn) presentaron valores que se ajustaron a los criterios de aceptación de las pruebas preliminares. Por esta razón se convirtieron en los metales disueltos objetivo en la investigación y a continuación se presentan los resultados que comprueban dicha afirmación:

6.2.1. Resultados de regresión lineal curvas de calibración

La elaboración de las curvas de calibración se realizó partir de los estándares mixtos que fueron preparados a las concentraciones que se muestran en la **Tabla 4**. Se realizaron lecturas por triplicado de cada estándar en tres días diferentes en el ICP-OES, usando modo axial. Los resultados obtenidos se presentan a continuación:

Tabla 5. Resultados curva de calibración de Cd

Longitud de onda: 228,802				
Concentración (µg/L)	Intensidades			
	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Promedio
3,0000	9,2777	7,8858	7,3133	8,1589
5,0000	13,043	12,351	12,733	12,709
10,000	23,865	25,201	24,593	24,553
20,000	45,973	49,393	48,862	48,076
30,000	67,324	72,751	72,636	70,903
60,000	135,48	146,75	146,82	143,02
100,00	223,96	244,45	245,26	237,89
300,00	659,07	717,96	717,16	698,06
Pendiente (m)	2,1909	2,3919	2,3907	2,3245
Intercepto (b)	2,6507	1,7248	1,6340	2,0032
Coefficiente de Correlación (r)	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000

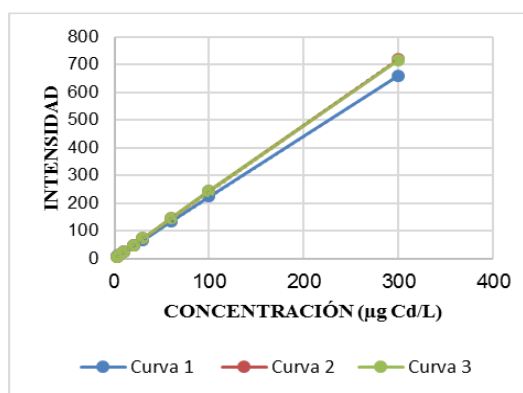
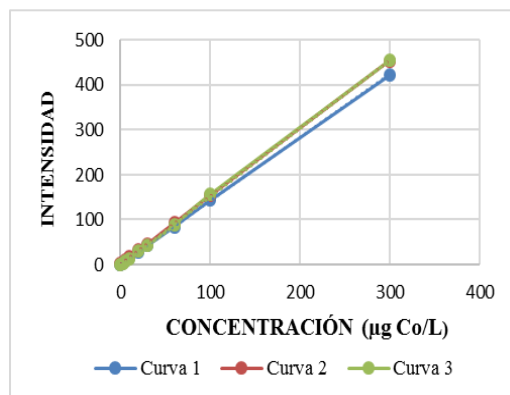


Figura 6. Curvas de calibración Cd

En la **Tabla 5** se evidencia que la curva de calibración de Cd cumple con el criterio de aceptación para el coeficiente de correlación $r \geq 0.995$, mientras que en la **Figura 6** se cumplió con el criterio visual de linealidad. La ecuación de la recta obtenida fue $\text{Intensidad} = 2.3245 \times [\text{mg/L Cd}] + 2.0032$

Tabla 6. Resultados curva de calibración de Co

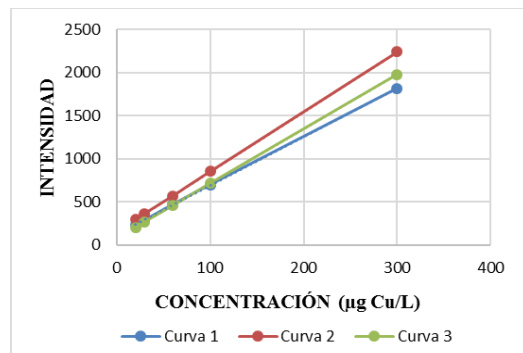
Longitud de onda: 238,892				
Concentración (µg/L)	Intensidades			
	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Promedio
3,0000	4,1751	5,8722	3,5051	4,5175
5,0000	7,1191	9,0560	6,3757	7,5169
10,000	14,057	16,840	13,811	14,903
20,000	27,571	31,795	29,587	29,651
30,000	41,942	46,736	42,044	43,574
60,000	84,417	93,481	87,415	88,438
100,00	143,07	154,14	155,65	150,95
300,00	422,44	452,98	454,45	443,29
Pendiente (m)	1,4098	1,5055	1,5224	1,4792
Intercepto (b)	0,0537	1,9978	1,3737	1,1417
Coefficiente de Correlación (r)	1,0000	1,0000	0,9999	1,0000

**Figura 7. Curvas de calibración Co**

En la **Tabla 6** se evidencia que la curva de calibración de Co cumple con el criterio de aceptación para el coeficiente de correlación $r \geq 0.995$, adicionalmente que en la **Figura 7** se cumplió con el criterio visual de linealidad. La ecuación de la recta obtenida fue $\text{Intensidad} = 1.4792 * [\text{mg/L Co}] + 1.1417$

Tabla 7. Resultados curva de calibración de Cu

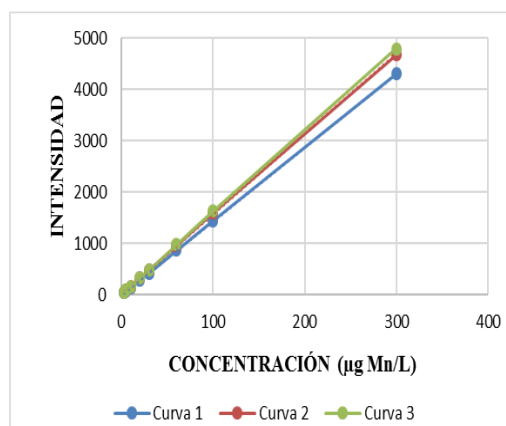
Longitud de onda: 324,754				
Concentración (µg/L)	Intensidades			
	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Promedio
20,000	239,01	294,49	203,20	245,57
30,000	292,54	368,18	267,99	309,57
60,000	472,94	572,64	456,22	500,60
100,00	702,49	854,95	714,07	757,17
300,00	1819,5	2241,3	1978,2	2013,0
Pendiente (m)	5,6415	6,9471	6,3375	6,3087
Intercepto (b)	129,85	157,71	77,499	121,69
Coefficiente de Correlación (r)	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000

**Figura 8. Curvas de calibración Cu**

En la **Tabla 7** se evidencia que la curva de calibración de Cd cumple con el criterio de aceptación para el coeficiente de correlación $r \geq 0.995$, mientras que en la **Figura 8** se cumplió con el criterio visual de linealidad. La ecuación de la recta obtenida fue $\text{Intensidad} = 6.3087 * [\text{mg/L Cu}] + 121.686$

Tabla 8. Resultados curva de calibración de Mn

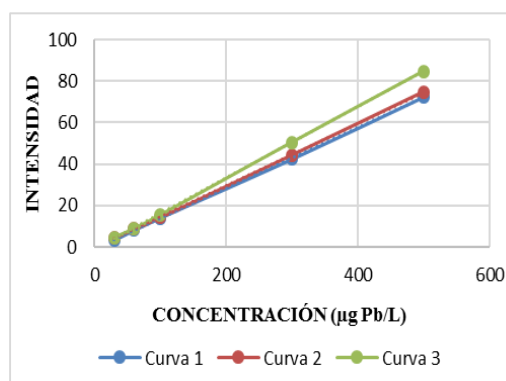
Longitud de onda: 257,610				
Concentración (µg/L)	Intensidades			
	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Promedio
3,0000	43,276	49,727	45,814	46,272
5,0000	69,607	83,966	81,032	78,202
10,000	144,99	159,88	157,89	154,25
20,000	290,08	320,39	322,86	311,11
30,000	427,49	473,72	481,01	460,74
60,000	864,74	952,37	977,45	931,52
100,00	1446,7	1589,2	1631,2	1555,7
300,00	4297,3	4674,3	4785,6	4585,7
Pendiente	14,333	15,578	15,970	15,290
Intercepto (b)	2,2623	10,037	6,5998	6,2997
Coefficiente de Correlación (r)	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000

**Figura 9. Curvas de calibración Mn**

En la **Tabla 8** se evidencia que la curva de calibración de Cd cumple con el criterio de aceptación para el coeficiente de correlación $r \geq 0.995$, mientras que en la **Figura 9** se cumplió con el criterio visual de linealidad. La ecuación de la recta obtenida fue $\text{Intensidad} = 15.2901 \cdot [\text{mg/L Mn}] + 6.2997$

Tabla 9. Resultados curva de calibración de Pb

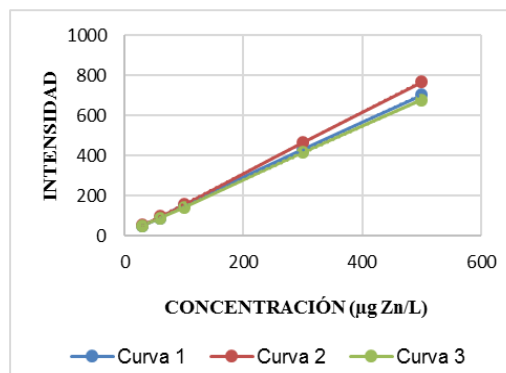
Longitud de onda: 220,353				
Concentración (µg/L)	Intensidades			
	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Promedio
30,000	3,2094	4,4127	4,6942	4,1054
60,000	8,0562	8,8220	8,8620	8,5800
100,00	14,068	14,345	15,431	14,615
300,00	42,358	44,379	50,514	45,751
500,00	72,201	74,774	84,752	77,243
Pendiente (m)	0,14570	0,14980	0,17180	0,15580
Intercepto (b)	0,87630	0,31830	1,16190	0,78550
Coefficiente de Correlación (r)	0,99990	1,00000	0,99990	0,99990

**Figura 10. Curvas de calibración Pb**

En la **Tabla 9** se evidencia que la curva de calibración de Cd cumple con el criterio de aceptación para el coeficiente de correlación $r \geq 0.995$, mientras que en la **Figura 10** se cumplió con el criterio visual de linealidad. La ecuación de la recta obtenida fue $\text{Intensidad} = 0,1558 \cdot [\text{mg/L Pb}] + 0,7855$

Tabla 10. Resultados curva de calibración de Zinc

Longitud de onda: 213,856				
Concentración (µg/L)	Intensidades			
	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Promedio
30,000	50,921	55,226	51,343	52,497
60,000	90,312	98,618	90,573	93,168
100,00	154,80	157,38	141,81	151,33
300,00	433,67	468,53	415,86	439,35
500,00	703,98	767,90	677,94	716,61
Pendiente (m)	1,3923	1,5231	1,3386	1,4180
Intercepto (b)	11,064	7,9501	10,471	9,8280
Coefficiente de Correlación (r)	0,99990	1,0000	1,0000	0,99990

**Figura 11. Curvas de calibración Zn**

En la **Tabla 10** se evidencia que la curva de calibración de Cd cumple con el criterio de aceptación para el coeficiente de correlación $r \geq 0.995$, mientras que en la **Figura 11** se cumplió con el criterio visual de linealidad. La ecuación de la recta obtenida fue $\text{Intensidad} = 1,4180 \cdot [\text{mg/L Pb}] + 9,8280$

6.2.2. Resultados prueba de carga y flujo de reactivos

Los volúmenes usados para cada componente y los flujos promedio obtenidos por inyección manual se muestran en la **Tabla 11**.

Tabla 11. Tiempos de inyección manual de componentes con jeringa

Componente	HNO ₃ 1M	agua desionizada	Buffer 0,05M	Muestra: Agua desionizada	eluato: HNO ₃ 1M
Volumen (mL)	15	30	40	120	15
Unidad de tiempo	Segundos	Segundos	Segundos	Segundos	Segundos
1	100	230	250	720	80
2	100	210	230	900	120
3	90	270	210	600	130
4	120	240	240	620	120
5	90	250	260	670	120
6	80	230	255	600	120

Componente	HNO ₃ 1M	agua desionizada	Buffer 0,05M	Muestra: Agua desionizada	eluato: HNO ₃ 1M
7	110	210	240	360	100
8	100	180	210	420	80
9	110	180	220	420	80
10	90	170	230	480	95
Promedio (Segundos.)	99	217	235	579	104,5
Flujo promedio (mL/segundo)	0,15	0,07	0,06	0,03	0,14
Flujo promedio (mL/Minuto)	9,1	8,3	10,2	12,4	8,6

Fuente: Autor

En la extracción manual con jeringa, en promedio se gastaron 21 minutos para completar el ciclo completo de cada replica, para la extracción y concentración de metales disueltos en el agua desionizada. Se empleó una jeringa diferente para la inyección de cada componente; se obtuvieron flujos de (9.1 – 8.3 – 10.2 y 12.4) mL/min para HNO₃ 1 M, agua desionizada, buffer y muestra respectivamente, así como 8.6 mL/min para el eluato, estos flujos fueron mayores a los reportados por (Sohrin et al., 2008) y (Minami et al., 2015). 3 mL/min para (HNO₃ 1 M, agua desionizada, buffer, muestra) y 1 mL/min para el eluato, con un tiempo de aproximadamente 2 horas para el ciclo completo de una réplica y un sistema de inyección automatizado, lo que les permitió controlar un flujo constante. En el presente trabajo la reducción en el tiempo de extracción, se consiguió principalmente por el mayor flujo logrado por la inyección manual con jeringa. Sin embargo, el flujo no es constante. Por otra parte, en la **Tabla 12** se presentan los flujos obtenidos en la inyección manual por gravedad.

Tabla 12. *Tiempos de inyección manual de componentes por gravedad*

Componente	HNO ₃ 1M	Agua desionizada	Buffer 0,05M	Muestra: Agua desionizada	eluato: 15ml HNO ₃ 1M
Volumen (mL)	15	30	40	120	15
Unidad de tiempo	Segundo	Segundo	Segundo	Segundo	Segundo
1	320	660	1020	2700	-
2	334	680	1000	2670	-
3	330	688	1040	2740	-
Promedio (Segundos)	328	676	1020	2703	-
Flujo promedio. (mL/Segundos)	0,05	0,02	0,01	0,01	-
Flujo promedio. (mL/Min)	2,7	2,7	2,4	2,7	-

Fuente: Autor

En la extracción manual por gravedad, en promedio se gastaron 79 minutos para completar el ciclo de cada replica, para la extracción y concentración de metales disueltos en el agua desionizada. Se obtuvieron flujos de 2.7 mL/min para HNO₃ 1 M, agua desionizada, y muestra, 2.4 mL/min para el buffer, siendo similares a los reportados por (Sohrin et al., 2008) y (Minami et al., 2015). Los flujos obtenidos experimentalmente por gravedad, son más constantes que los obtenidos por inyección con jeringa. Sin embargo, el ciclo para cada muestra se tarda casi 4 veces más, siendo poco conveniente, ya que se trata de un procedimiento manual. No se realizó esta prueba para el eluato ya que el sistema utilizado en contraflujo no lo permitió.

6.2.3. Resultados de prueba de pH, conductividad y salinidad de reactivos y muestras

En la **Tabla 13** se exponen los resultados de pH en los componentes usados en el procedimiento de preconcentración antes y después de su paso por la resina NC PA-1, con un día de diferencia.

Tabla 13. Resultados de pH durante la extracción con resina NC PA-1

Réplica	Componente ¹	Día 1 ²	Día 2 ³	Lavado con buffer
		pH/T°C	pH/T°C	
1	Blanco	6.02/22.9	6.00/22.8	
2	Blanco	6.00/24.2	6.05/23.1	
3	Blanco	6.00/22.5	5.98/22.3	
1	Buffer NH ₄ AcO 0,05 M	6.03/24.0	6.03/23.5	
2	Buffer NH ₄ AcO 0,05 M	6.02/23.6	6.02/23.1	
3	Buffer NH ₄ AcO 0,05 M	6.03/23.0	6.04/23.1	
1	Blanco fortificado	6.05/22.5	6.05/22.8	
2	Blanco fortificado	6.03/22.2	6.01/24.4	
3	Blanco fortificado	6.02/22.2	6.03/22.4	
1	Muestra de mar	6.01/22.2	6.02/22.1	6.02/22.1
2	Muestra de mar	6.03/21.8	6.04/22.2	6.02/22.0
3	Muestra de mar	6.03/21.9	6.03/22.5	6.04/22.3

¹Todos los componentes se ajustaron a pH 6.00 ± 0.05 con ácido nítrico y/o amoníaco ²Antes de inyección a través de la resina ³Después de inyección por resina. Fuente: Autor

En la **Tabla 13** se evidencia que los resultados de pH, de la muestra de mar y los reactivos usados en el procedimiento de extracción, es estable durante al menos 1 día, dentro del rango establecido por la metodología de referencia (pH 6.00 ± 0.05), antes y después de su paso por la resina NC PA-1. Los resultados obtenidos son de gran utilidad en la aplicabilidad del método ya que podría realizarse el ajuste de pH a 6.00 ± 0.05 de un determinado número de muestras un día y al siguiente completar el procedimiento de extracción, lo que permitiría optimizar tiempo cuando la carga analítica sea alta, como es habitual.

Adicionalmente, se midió la salinidad de los componentes usados en el procedimiento de preconcentración antes y después de su paso por la resina NC PA-1, con un día de diferencia y los resultados obtenidos se presentan en la **Tabla 14**.

Tabla 14. Resultados de salinidad durante la extracción con resina NC PA-1

Réplica	Componente ¹	Día 1 ²	Día 2 ³	Lavado con buffer
		Salinidad	Salinidad	Salinidad
1	Blanco	1.2	1.2	
2	Blanco	1.2	1.2	
3	Blanco	1.2	1.2	
1	Buffer NH ₄ AcO 0,05 M	2.9	2.9	
2	Buffer NH ₄ AcO 0,05 M	2.9	2.9	
3	Buffer NH ₄ AcO 0,05 M	2.9	2.9	
1	Blanco fortificado	1.9	1.9	
2	Blanco fortificado	1.9	1.9	
3	Blanco fortificado	1.9	1.9	
1	Muestra de mar	36.4	35.9	4.1
2	Muestra de mar	36.5	36.1	3.9
3	Muestra de mar	36.6	36.3	3.9

¹Todos los componentes se ajustaron a pH 6.00 ± 0.05 con ácido nítrico y/o amoníaco. ²Antes de inyección a través de la resina. ³Después de inyección por resina. Fuente: Autor

En la **Tabla 14** se observa que la salinidad de los componentes antes y después del paso por la resina fue constante, a excepción de la muestra de mar, donde se observa una pequeña disminución, lo cual indica que parte de las sales quedaron en la columna que contiene la resina, no obstante, al analizar el buffer HAcO-NH₄AcO 0.05 M (pH 6) después de lavar la resina, se observó un aumento de salinidad de 1.0 ‰. Lo anterior, es evidencia de que la pequeña parte de las sales que se adhieren en la resina después del paso de la muestra, es eliminada en el lavado con buffer, por lo que se comprueba que el eluato obtenido al final del procedimiento de extracción está libre de interferencia por sales para la lectura en el ICP-OES confirmando lo expuesto por (Sohrin et al., 2008) y (Minami et al., 2015).

La cuantificación por ICP-OES, de metales disueltos en las soluciones de HNO₃ y HCl, fue realizada por lectura directa a partir de las Curvas de calibración de metales disueltos. Los resultados se muestran en la **Tabla 15**.

Tabla 15. Resultados de metales en soluciones con HNO₃ y HCl

Metal	HNO ₃ 1 N			HNO ₃ 0,5 N			Agua-HCl ^a			Agua-HNO ₃ ^b		
	Promedio	SD	RSD	Promedio	SD	RSD	Promedio	SD	RSD	Promedio	SD	RSD
Cd	0,31	0,15	48,7	nd			nd			nd		
Co	0,08	0,18	237	nd			nd			nd		
Cu	1,16	0,16	14,2	1,06	0,24	22,9	2,50	1,75	69,9	1,69	0,15	8,88
Mn	Nd			nd			nd			nd		
Pb	0,74	2,16	293	1,73	2,8	162	3,04	4,27	141	nd		
Zn	0,62	0,13	20,3	nd			0,06	4,13	6515	0,43	2,86	660

Nota: Todas las muestras analizadas en esta prueba fueron analizadas por triplicado y sin preconcentración por ICP-OES. ^aAgua desionizada + HCl concentrado hasta pH <2 (n:3). ^bAgua desionizada + HNO₃ concentrado hasta pH < 2 (n:3) ^cnd, no detectado. Fuente: Autor.

Las concentraciones obtenidas en la **Tabla 15** se encontraron por debajo del límite inferior de trabajo, para cada uno de los analitos, por lo que se descartó una posible interferencia positiva, durante el procedimiento de preconcentración y lectura, por el uso de estos reactivos.

6.2.4. Resultados de análisis de blancos

En la (**Tabla 16**) se exponen los resultados de 10 réplicas de una solución de HNO₃ 1 M analizados por lectura directa y 10 réplicas blancos preconcentrados con FC:8. Las lecturas fueron realizadas por ICP-OES

Tabla 16. Resultados de metales disueltos en blancos

Metal	HNO ₃ 1 M ^a			Agua desionizada FC:8 ^b		
	Promedio	SD	RSD	Promedio	SD	RSD
Cd	0,03	0,10	361	0,01	0,02	185
Co	0,75	0,39	52,8	0,07	0,03	41,3
Cu	nd ^c			nd		
Mn	nd			0,24	0,04	19,1
Pb	0,06	1,87	2878	0,49	0,23	46,4

Metal	HNO ₃ 1 M ^a	Agua desionizada FC:8 ^b		
Zn	nd	9,57	3,10	32,4

^aLectura directa de la solución de HNO₃ 1 M por ICP-OES (n:10).

^bLectura de extractos obtenidos de la preconcentración de alícuotas de 120 mL de agua desionizada con la resina NC PA-1 FC:8 (n:10).

^cnd, no detectado. Fuente: Autor

Las concentraciones de metales disueltos obtenidas en el HNO₃ 1 M, se encontraron por debajo del límite inferior de trabajo (ver **Tabla 16**), razón por la cual la precisión expresada como SD y RSD fue insatisfactoria. Por otra parte, las concentraciones de metales disueltos obtenidas para los blancos de agua desionizada FC:8, también se encontraron por debajo de los límites inferiores de trabajo, excepto para zinc con promedio de 9.57 µg Zn/L, lo que indica un aporte significativo de concentración en el procedimiento de preconcentración, que puede ser causado posiblemente por el buffer HAcO-NH₄AcO 0.05 M (pH 6). Debido a lo anterior se hizo necesario realizar pruebas de la limpieza del buffer.

6.2.5. Resultados de pruebas de limpieza buffer HAcO-NH₄AcO 0,05 M.

Todos los eluatos recolectados en las tres pruebas, fueron analizados por ICP-OES. Los resultados de la pruebas 1 y 2 fueron graficados en la **Figura 12**

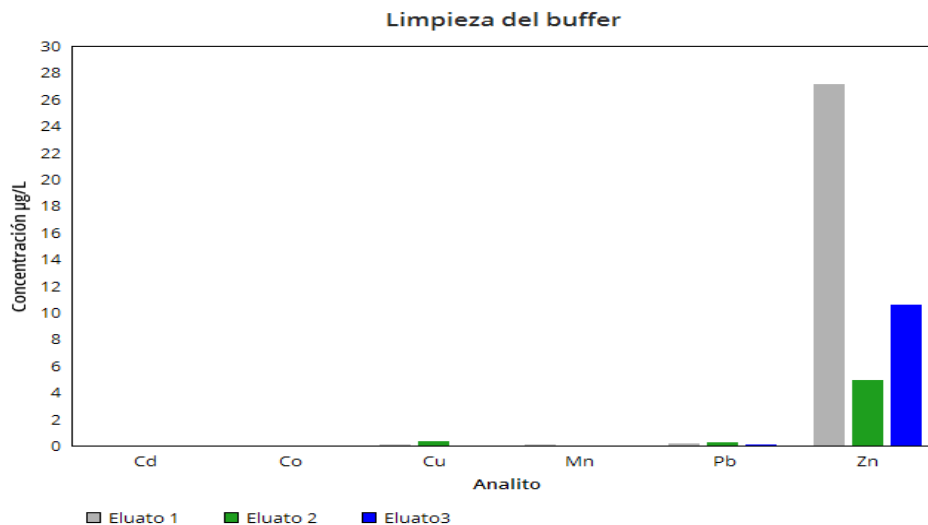


Figura 12. Resultados de pruebas 1 y 2 de limpieza del buffer.

Fuente: Autor

En la **Figura 12**, se evidenció que en la prueba 1 se encontró una concentración de 27.2 µg Zn /L en el eluato 1, 4.94 µg Zn/L en el eluato 2 y 10.6 µg Zn/L eluato 3 indicando una mayor remoción en el Procedimiento prueba 1. Para el resto de metales la remoción fue muy baja o nula. Los resultados de la prueba 3 se graficaron en la **Figura 13**

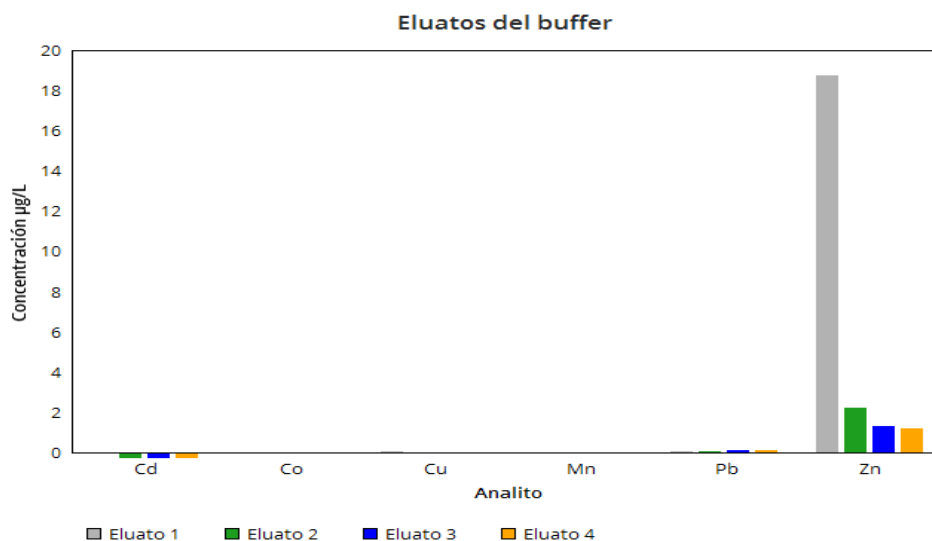


Figura 13. Concentraciones de metales en los eluatos del buffer - prueba 3.

Fuente: Autor

En la prueba 3 se observaron concentraciones detectadas de Ag, Ba, Co, Cr, Cu, Pb y V. Sin embargo, se encontraron por debajo de los límites inferiores de trabajo, al igual que Al, Cd, Fe, Mn, Ni y Zn que presentaron valores negativos. (Ver **Figura 13**). En contraste con lo anterior, se encontró una concentración de zinc significativa en el extracto de la primera limpieza con la resina NC PA-1 (FC: 66.6) de 18.8 $\mu\text{g Zn /L}$, en los extractos de la segunda, tercera y cuarta limpieza, se detectaron concentraciones por debajo del límite inferior de trabajo para todos los metales. Esto confirmó que la primera limpieza genera la mayor remoción de zinc. En la **Figura 14** se encuentran los resultados del análisis del buffer después de cada limpieza en forma directa directamente por ICP-OES.

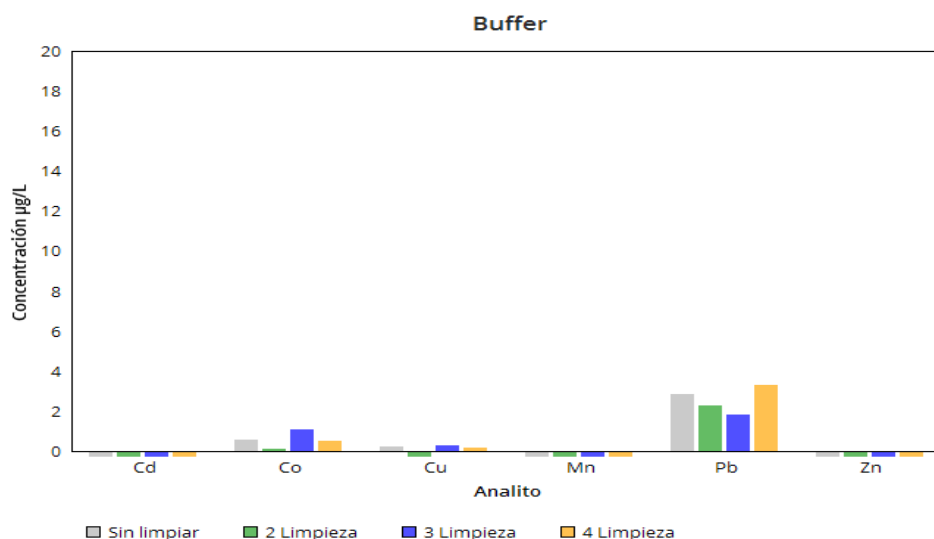


Figura 14. Concentración de metales disueltos en el buffer en la prueba 3.

Fuente: Autor

Se puede evidenciar en la **Figura 14** que concentraciones de metales disueltos se encuentran por debajo del límite inferior de trabajo por lo tanto se demuestra que el buffer no aporta contenido de analitos a las muestras.

6.2.6. Resultados de pruebas de error y recuperación

A continuación, se relacionan los resultados obtenidos de las cuatro pruebas de error y recuperación realizadas. Las lecturas de los estándares de control (QC-1 y QC-2) y las muestras preconcentradas con la resina NC-PA-1 se realizaron por ICP-OES.

6.2.6.1. *Resultados prueba 1 de error y recuperación.* Los resultados obtenidos en la lectura del día 16/09/2019 en la prueba 1 de error y recuperación se presentan en la **Tabla 17.**

Tabla 17. Resultados de prueba 1 de error y recuperación

ID	Parámetro	Concentración de metales disueltos (µg/L)					
		Cd	Co	Cu	Mn	Pb	Zn
Blanco curva ^a	Resultado	nd	0,68	nd	nd	0,12	nd
	Valor teórico	3,00	3,00	20,0	3,00	30,0	30,0
	Promedio (n:2)	2,58	2,84	19,8	3,05	27,0	35,8
	SD	0,04	0,06	0,49	0,02	5,02	0,35
	RSD	1,64	2,24	2,51	0,70	18,6	0,99
	% Error	14,0	5,50	1,25	1,50	10,2	19,2
QC-1 ^b	Valor teórico	30,0	30,0	40,0	30,0	60,0	40,0
	Promedio (n:2)	29,9	31,0	39,5	30,6	61,1	39,0
	SD	0,07	0,14	0,49	0,28	2,83	0,57
	RSD	0,24	0,46	1,25	0,92	4,63	1,45
	% Error	0,50	3,33	1,37	2,00	1,83	2,50
QC-2 ^c	Promedio (n:8)	0,01	0,09	nd	0,23	0,45	9,57
	SD	0,02	0,02		0,04	0,24	3,10
	RSD	193	27,0		17,1	53,0	32,4
Blanco FC:8 ^d	Valor fortificado	30,0	30,0	40,0	30,0	60,0	40,0
	resultado	27,8	27,0	39,9	25,5	52,5	46,6
	% Recuperación	92,7	90,0	99,8	85,0	87,5	92,6
Muestra 1 FC:8 ^e	Resultado	0,02	0,18	0,18	1,79	0,36	47,4
	Adicionado	3,00	3,00	20,0	3,00	30,0	30,0
	Promedio (n:3)	2,70	2,59	17,8	3,76	27,1	34,9
Muestra 1 ^f con adicionado bajo FC:8	SD	0,03	0,03	0,17	0,15	0,45	2,91
	RSD	1,28	1,24	0,97	3,88	1,67	8,36
	% Recuperación	90,0	86,2	89,0	125	90,2	0,00
Adicionado 2	Adicionado 2	30,0	30,0	40,0	30,0	60,0	40,0

Muestra 1 ^f con adicionado alto FC: 8	Promedio (n:3)	26,5	25,0	36,1	24,1	53,7	45,0
	SD	0,36	0,46	0,55	0,58	0,64	6,38
	RSD	1,36	1,83	1,53	2,39	1,20	14,2
	% Recuperación	88,3	83,3	90,2	80,4	89,6	0,00

Nota: FC corresponde al factor de concentración, obtenido producto de la relación volumen de muestra / volumen de extracto, en el procedimiento de preconcentración. nd: no detectado. ^aSolvente usado (HNO₃ 0,5 N) para preparar estándares de curvas de calibración (sin preconcentración). ^bEstándar de concentración baja, preparado en HNO₃ 0,5 N (sin preconcentración). ^cEstándar de concentración alta, preparado en HNO₃ 0,5 N (sin preconcentración). ^dAgua desionizada preconcentrada 8 veces. ^eAgua desionizada con adicionado bajo de metales disueltos, preconcentrada 8 veces. ^fMuestra de mar, proveniente de Bahía Chengue preconcentrada 8 veces. Fuente: Autor

En la **Tabla 17** se observa que el blanco de curva obtuvo valores por debajo de los límites inferiores de trabajo para todos los metales de interés. Adicionalmente se realizó un análisis estadístico de los resultados, empleando estadística descriptiva con la herramienta complementaria del software Excel para estadística paramétrica y los errores calculados en los QC-1 y QC-2 fueron < 15 % a excepción de Zn en el QC-1 (19.2 %) atribuido a un error aleatorio, probablemente en el momento de la preparación. En el blanco fortificado FC:8 las recuperaciones de Cd, Co, Cu, Mn, Pb y Zn fueron (92.7, 90.0, 99.8, 85.0, 87.5 y 92.3) % respectivamente. En la muestra 1 con adicionado bajo FC:8, las recuperaciones de Cd, Co, Cu, y Pb fueron (90.0, 86.2, 89.0, 90.2) % respectivamente, mientras que en la muestra 1 con adicionado alto FC:8 las recuperaciones de Cd, Co, Cu, Fe, Mn y Pb fueron (88.3, 83.3, 90.2, 76.8, 80.4 y 89.6) % respectivamente. Se calcularon RSD < 15 % para estándares y adicionados en muestras. Los anteriores parámetros de precisión y exactitud obtenidos, se encuentran dentro de los criterios de aceptación de las pruebas preliminares (ver **Tabla 3**) establecidas en este estudio tomando como referencia el manual analítico de calidad 2 del LABCAM (INVEMAR, 2018b). Sin embargo, el criterio de recuperación (60 - 110 %) no se cumplió para la muestra 1 con adicionado bajo de Mn y Zn (125 y 0%) y alto de Zn (0%).

Los resultados desfavorables de Zn se deben a una contaminación positiva en el blanco FC:8 y la muestra 1 FC:8 producto de una incompleta limpieza buffer, lo cual afectó el cálculo de la recuperación del adicionado. Debido a esto, se diseñaron las pruebas de limpieza del buffer referidas en el ítem anterior con el fin de asegurar la remoción de los metales disueltos estudiados de este reactivo. En el caso de Mn, la alta recuperación obtenida fue atribuida a un error aleatorio, probablemente en el momento de la preparación del adicionado bajo.

6.2.6.2. *Resultados de prueba 2 de error y recuperación.* Los resultados obtenidos en la lectura del día 04/10/2019 en la prueba 1 de error y recuperación se presentan en la **Tabla 18**.

Tabla 18. Resultados de prueba 2 de error y recuperación

ID	Parámetro	Concentración de metales disueltos (µg/L)					
		Cd	Co	Cu	Mn	Pb	Zn
QC 1 ^a	Valor teórico	3,00	3,00	20,0	3,00	30,0	30,0
	Promedio (n:3)	2,66	2,72	21,2	2,64	30,4	32,1
	SD	0,14	0,52	0,32	0,01	2,48	0,15
	RSD	5,26	19,0	1,51	0,22	8,16	0,48
	% Error	11,3	9,22	6,17	11,9	1,44	6,89
QC 1 ^b	Valor teórico	3,00	3,00	20,0	3,00	30,0	30,0
	Promedio (n:3)	2,92	2,73	21,5	2,80	28,3	37,8
	SD	0,01	0,38	0,32	0,02	4,29	1,21
	RSD	0,20	13,8	1,50	0,54	15,2	3,21
	%Error	2,56	9,11	1,53	6,56	5,67	23,9
Blanco FC:13,3 ^c	Promedio (n:3)	0,02	ND	0,17	0,04	0,22	5,00
	SD	0,00	-	0,02	0,02	0,08	0,76
	RSD	4,88	-	14,0	64,0	35,9	15,2
Blanco Fortificado FC: 13,3 ^d .	Valor fortificado	0,40	0,40	2,50	0,40	4,00	5,00
	Promedio (n:4)	0,33	0,34	2,15	0,42	2,82	10,1
	SD	0,01	0,02	0,06	0,02	0,08	1,46
	RSD	2,08	5,55	2,80	3,82	2,78	14,4
	%Rec.	83,4	85,6	86,2	96,4	70,5	103

^aEstándar de concentración baja, preparado en HNO₃ 0,5 N (sin preconcentración). ^bEstándar de concentración baja, preparado en HNO₃ 1 N (sin preconcentración). ^cAgua desionizada, preconcentrada 13,3 veces ^dAgua desionizada con adición bajo de metales disueltos, preconcentrada 13,3 veces.

Fuente: Autor

Los errores calculados en los QC-1 preparados en HNO₃ (0.5 N y 1 N), fueron < 15 % a excepción de Zn en HNO₃ 1 N (23.9 %) atribuido a un error aleatorio en la preparación (ver **Tabla 18**). Adicionalmente las recuperaciones de Cd, Co, Cu, Mn, Ni, Pb y Zn en el blanco fortificado FC:13.3 fueron (83.4, 85.6, 86.2, 96.4, 70.5 y 103) % respectivamente. Se encontraron RSD < 15 % para estándares y el blanco fortificado. Con lo anterior se comprueba que los parámetros precisión y exactitud obtenidos, se encuentran dentro de los criterios de aceptación de las pruebas preliminares (ver **Tabla 3**) establecidas en este estudio tomando como referencia el manual analítico de calidad 2 del LABCAM (INVEMAR, 2018b).

El aumento del FC de 8 a 13.3 en el procedimiento de preconcentración, mejoró la recuperación en el blanco fortificado con concentraciones bajas de los metales objetivo, debido a que al incrementar el volumen de la muestra, también lo hace la cantidad de analito en el extracto obtenido.

6.2.6.3. *Resultados prueba 3 de error y recuperación.* Los resultados obtenidos en la lectura del día 29/10/2019 para la prueba 3 de error se presentan en la **Tabla 19**.

Tabla 19. *Resultados prueba 3 de error y recuperación*

ID	Parámetro	Concentración de metales disueltos (µg/L)					
		Cd	Co	Cu	Mn	Pb	Zn
Blanco curva ^a	Promedio (n:2)	nd ^d	0,50	1,82	nd	nd	nd
QC-1 ^b	Valor teórico	3,00	3,00	20,0	3,00	30,0	30,0

ID	Parámetro	Concentración de metales disueltos (µg/L)					
		Cd	Co	Cu	Mn	Pb	Zn
QC-2 ^c	Promedio	2,60	3,11	21,3	2,60	33,4	32,0
	RSD	14,1	0,23	1,99	4,09	0,42	2,43
	%error	13,3	3,50	2,60	13,5	11,3	6,50
	Valor teórico	20,0	20,0	100	20,0	300	300
Muestra 2 ^c	Promedio (n:2)	19,9	19,6	101	19,8	299	300
	RSD	1,42	1,81	1,40	1,07	0,47	0,94
	%error	0,50	2,25	0,82	1,25	0,33	0,00
	Promedio (n:3)	1,91	0,03	0,23	0,38	0,51	11,4
Muestra 2 ^c con adicionado bajo	SD	2,98	0,03	0,05	0,03	0,3	1,64
	RSD	156	100	20,8	6,74	67,2	14,5
	Valor Adicionado	0,40	0,40	2,50	0,40	5,00	5,00
	Promedio (n:10)	0,38	0,39	2,15	0,72	4,53	15,5
Muestra 2 ^c con adicionado bajo	SD	0,01	0,02	0,10	0,02	0,19	0,83
	RSD	2,22	5,13	4,74	3,25	4,15	5,39
	%Rec.	95,9	88,6	85,8	84,4	90,7	82,5

^aSolvente usado (HNO₃ 0,5 N) para preparar estándares de curvas de calibración (sin

preconcentración).^bEstándar de concentración baja, preparado en HNO₃ 0,5 N (sin

preconcentración).^cEstándar de concentración alta, preparado en HNO₃ 0,5 N (sin preconcentración).

^dMuestra proveniente de Océano abierto a 80 km de la bahía de santa marta (13180) preconcentrada

13,3 veces: ^dnd, no detectado. Fuente: Autor

Se realizó análisis estadístico de los resultados, empleando estadística descriptiva con la herramienta complementaria del software Excel para estadística paramétrica (**Tabla 19**), donde los errores calculados en el QC-1 y QC-2 fueron < 15 % y las recuperaciones de Cd, Co, Cu, Mn, Ni, Pb y Zn en el adicionado bajo en muestra de mar fueron (95.9, 88.6, 85.8, 84.4, 90.7 y 82.5) % respectivamente. Se calcularon RSD < 15 % para estándares y adicionado en muestra de mar. Con lo anterior se comprueba que los parámetros precisión y exactitud obtenidos, se encuentran dentro de los criterios de aceptación de las pruebas preliminares (ver **Tabla 3**) establecidas en este estudio tomando como referencia el manual analítico de calidad 2 del LABCAM (INVEMAR, 2018b).

6.2.6.4. *Resultados prueba 4 de error y recuperación.* Los resultados obtenidos en la lectura del día 18/11/2019 en la prueba 4 de error y recuperación, se presentan en la **Tabla 20**.

Tabla 20. *Resultados prueba 4 de error y recuperación*

ID	Parámetro	Concentración de metales disueltos (µg/L)					
		Cd	Co	Cu	Mn	Pb	Zn
Blanco curva ^a	Resultado	nd	0,18	nd	nd	2,38	nd
QC-1 ^b	Valor teórico	3,00	3,00	20,0	3,00	30,0	30,0
	Promedio (n:2)	2,46	2,84	19,7	2,83	28,7	30,4
	SD	0,06	0,15	0,14	0,05	1,77	0,78
	RSD	2,59	5,24	0,72	1,75	6,17	2,56
	% Error	18,2	5,5	1,5	5,83	4,5	1,17
QC-2 ^c	Valor teórico	20,0	20,0	100	20,0	300	300
	Promedio (n:2)	19,6	19,5	99,7	20,2	299	307
	SD	0,14	0,14	1,91	0,35	4,95	3,54
	RSD	0,72	0,73	1,92	1,75	1,66	1,15
	% Error	2,00	2,5	0,35	0,75	0,5	2,17
Muestra 3 FC:13,3 ^d	Promedio	0,00	0,01	0,45	0,38	0,83	8,18
	SD	0,03	0,01	0,19	0,07	0,22	1,35
	RSD	1755	217	42,0	18,0	27	16,5
Muestra 3 con Adicionado alto FC:13,3 ^e	Adicionado	20,0	20,0	60,0	20,0	100	100
	Promedio n:4	15,7	13,1	52,7	11,3	83,4	93,2
	SD	0,29	0,19	0,90	0,11	0,94	2,55
	RSD	1,87	1,43	1,70	0,94	1,13	2,74
	% Recuperación	78,4	65,5	87,9	56,3	83,4	85,0
Muestra 3 con adicionado alto FC:13,3 lectura FD:10 ^f	Promedio n:4	14,9	12,9	52,4	11,0	81,2	99,6
	SD	0,52	0,22	1,17	0,25	2,24	4,60
	RSD	3,48	1,68	2,23	2,26	2,76	4,62
	% Recuperación	74,3	64,3	87,3	54,8	81,2	87,1

^aSolvente usado (HNO₃ 0,5 N) para preparar estándares de curvas de calibración (sin preconcentración). ^bEstándar de concentración baja, preparado en HNO₃ 0,5 N (sin preconcentración). ^cEstándar de concentración alta, preparado en HNO₃ 0,5 N (sin preconcentración). ^dMuestra proveniente de Océano abierto a 80 km de la bahía de santa marta preconcentrada 13,3 veces. ^eMuestra proveniente de Océano abierto a 80 km de la bahía de santa marta con adición de metales disueltos, preconcentrada 13,3 veces. ^fMuestra proveniente de Océano abierto a 80 km de la bahía de santa marta con adición de metales disueltos, preconcentrada 13,3 veces (lectura FD:10). Fuente: Autor

Se realizó análisis estadístico de los resultados, empleando estadística descriptiva con la herramienta complementaria del software Excel para estadística paramétrica (**Tabla 20**) donde se encontraron porcentajes de error para el QC-1 < 15 % a excepción de Cd que fue 18,2% atribuido a errores aleatorios y para el QC-2 <10 %. Las recuperaciones de Cd, Cu, Pb y Zn en el adicionado alto en muestra de mar fueron (74.3, 87.3, 81.2 y 87.1) % respectivamente. Se calcularon RSD < 15 % para estándares y adicionado en muestra de mar. Los anteriores parámetros de precisión y exactitud obtenidos, se encuentran dentro de los criterios de aceptación de las pruebas preliminares (ver **Tabla 3**) establecidas en este estudio tomando como referencia el manual analítico de calidad 2 del LABCAM (INVEMAR, 2018b). Sin embargo, el criterio de recuperación (60 - 110 %) no se cumplió para el adicionado alto en muestra de mar de Co y Mn (64.3 y 54.8) % respectivamente, lo cual fue atribuido a una disminución de los sitios activos en los ligandos (ácido etilendiaminotriacético y ácido iminoacético) inmovilizados en la resina NC PA-1 para formar quelatos con estos analitos, debido a las altas concentraciones de los mismos.

6.2.7. Resultados prueba de análisis de pérdidas

En la **Tabla 21** se presentan los resultados obtenidos el día 18/11/2019 en tres etapas, que se consideran críticas para identificar la causa de las pérdidas de algunos analitos, durante el procedimiento de preconcentración de muestras.

Tabla 21. Resultados prueba de análisis de pérdidas

ID	Parámetro	Concentración de Metales disueltos (µg/L)					
		Cd	Co	Cu	Mn	Pb	Zn
Blanco FC:13,3 ^a	Promedio (n:3)	nd	0,01	0,03	0,19	0,08	12,5
	SD		0,03	0,02	0,00	0,17	1,91
	RSD		235	43,5	2,6	207	15,4
Blanco fortificado ^b (Etapa 1)	Valor fortificado	20,0	20,0	60,0	20,0	100	100
	Promedio (n:3)	19,2	20,1	51,3	20,5	61,1	102
	SD	0,70	0,50	0,99	0,38	2,80	1,53

ID	Parámetro	Concentración de Metales disueltos (µg/L)					
		Cd	Co	Cu	Mn	Pb	Zn
	RSD	3,65	2,49	1,92	1,85	4,59	1,49
	%Error	4,00	0,50	14,4	2,33	38,9	2,33
Filtrado ^c (Etapa 2)	Promedio (n:3)	0,64	3,22	2,26	4,34	13,7	7,49
	SD	0,36	0,33	0,24	0,41	2,43	1,69
	RSD	56,5	10,4	10,7	9,44	17,7	22,6
Lavado con buffer ^d (Etapa 3)	Promedio (n:3)	nd	0,59	0,39	1,94	3,39	2,40
	SD	0,05	0,64	0,22	0,10	1,01	1,44
	RSD		108	56,7	5,10	29,9	59,9
Blanco fortificado FC:13,3 ^e (Etapa 4)	Valor fortificado	20,0	20,0	60,0	20,0	100	100
	Promedio (n:3)	16,1	15,4	52,0	14,2	63,8	92,6
	SD	0,37	0,37	1,01	0,16	1,11	2,65
	RSD	2,31	2,41	1,94	1,12	1,75	2,86
	%R	80,4	77,1	86,7	71,1	63,8	80,2
Blanco fortificado FC:13,3 ^f (Etapa 5)	Promedio (n:3)	15,5	15,4	51,1	14,0	61,8	92,3
	SD	0,89	0,32	1,39	0,29	4,29	0,69
	RSD	5,76	2,09	2,73	2,07	6,94	0,75
	%R	77,5	76,8	85,1	69,9	61,8	79,8
% Perdida en filtrado		3,21	16,1	3,76	21,7	13,7	7,49
% Perdida en lavado con buffer		0,00	2,95	0,65	9,70	3,39	2,40
Pérdida total		3,21	19,1	4,41	31,4	17,1	9,88

^aAgua desionizada, preconcentrada 13,3 veces. ^bAgua desionizada con adición de concentraciones conocidas de metales disueltos, pH ajustado a $6,00 \pm 0,05$ (sin preconcentración). ^cFiltrado de (^b) después de pasar a través de la resina NC PA-1. ^dBuffer HAcO-NH₄AcO 0,05 M (pH 6), filtrado por la resina antes de la elución de los metales con HNO₃. ^eAgua desionizada con adicionado alto de metales disueltos, preconcentrada 13,3 veces, sin lavado con buffer (lectura con FD:10). ^fAgua desionizada con adicionado alto de metales disueltos, preconcentrada 13,3 veces, realizando lavado con buffer (lectura con FD:10). ^gnd, no detectado

Se realizó análisis estadístico de los resultados, empleando estadística descriptiva con la herramienta complementaria del software Excel para estadística paramétrica (ver **Tabla 21**) y se evidenció que en la etapa 1, antes de la inyección por la resina NC PA-1, se presentó un error en las concentraciones obtenidas en la lectura por ICP-OES para Cu, y Pb de (14.4 y 38.9) % respectivamente, atribuido al cambio de pH de < 2 a 6.00 ± 0.05 (para comprobar esta afirmación se realizó la prueba de influencia del pH expuesta en el siguiente ítem). Posteriormente en la etapa 2, se encontraron concentraciones, que constituyeron pérdidas de Co, Mn, Pb de (16.1, 21.7 y 13.7) % respectivamente, de la

concentración adicionada inicialmente; en contraste Cd, Cu y Zn reportaron porcentajes de pérdida bajos (3.21, 3.76 y 7.49) respectivamente. En la etapa 3, se calcularon pérdidas de Mn de 9.70 %, para los demás de metales disueltos, las pérdidas son ≤ 3.39 % de la concentración adicionada inicialmente. Lo anterior permitió identificar pérdidas de analitos considerables, encontradas en el buffer después del lavado de la resina *NC PA-1* para eliminar las sales (etapa 3) y en el filtrado (etapa 2), siendo esta última la causa más importante encontrada para explicar la disminución de la recuperación de Co, Mn y Pb. Adicionalmente, al comparar los porcentajes de recuperación, obtenidos en las tres replicas a las cuales se le realizó lavado, con 40 mL de buffer HAcO-NH₄AcO 0.05 M (pH 6), en relación con las tres replicas, a las cuales no se le realizó dicho lavado (etapa 4 y 5) respectivamente (ver **Tabla 21**), se encontró que la diferencia es < 3 %, por lo tanto el lavado con buffer no influyó negativamente en la recuperación de los metales de interés en agua de mar, como sí lo hizo la afinidad de cada metal con los ligandos de la resina en la formación de quelatos.

6.2.8. Resultados de la influencia del pH en blanco fortificado

En la **Tabla 22** se presentan los resultados obtenidos de una prueba que se diseñó para determinar el aumento del % de error al ajustar el pH a 6.00 ± 0.05 de un blanco fortificado con concentraciones altas que inicialmente estaba a pH < 2 . La lectura directa se realizó por ICP-OES el día 20/11/2019.

Tabla 22. Resultados de blanco fortificado a pH < 2 y 6.00 ± 0.05

ID	Parámetro	Concentración de Metales Analizados (µg/L)					
		Cd	Co	Cu	Mn	Pb	Zn
Blanco curva ^a	Resultado	0,20	nd	Nd	nd	nd	0,28
	Valor teórico	3,00	3,00	20,0	3,00	30,0	30,0
	Resultado	2,81	3,16	19,6	2,85	28,8	29,4
QC-1 ^b	% Error	6,33	5,33	2,00	5,00	4,00	2,00
	Valor teórico	20,0	20,0	100	20,0	300	300
	Resultado	20,0	20,1	101	20,2	300	298
QC-1 ^c	Valor teórico	20,0	20,0	100	20,0	300	300
	Resultado	20,0	20,1	101	20,2	300	298

ID	Parámetro	Concentración de Metales Analizados (µg/L)					
		0,00	0,50	1,00	1,00	0,00	0,67
Blanco Fortificado ^d pH < 2	Valor fortificado	20,0	20,0	60,0	20,0	100	100
	Promedio (n:3)	19,7	20,4	59,7	20,8	102	103
	SD	0,20	0,06	0,31	0,06	1,00	0,58
	RSD	1,02	0,28	0,51	0,28	0,98	0,56
	% Error	1,50	2,17	0,44	4,17	2,00	2,67
Blanco Fortificado ^e pH 6,00 ± 0.05	Promedio (n:3)	18,2	19,9	52,1	20,1	88,5	98,8
	SD	0,12	0,25	0,53	0,06	2,61	0,12
	RSD	0,63	1,27	1,02	0,29	2,95	0,12
	% Error	8,83	0,67	13,2	0,67	11,5	1,17
Blanco Fortificado ^f pH < 2	Promedio (n:3)	19,2	20,2	59,2	20,3	100	99,9
	SD	0,17	0,21	0,15	0,00	0,58	0,10
	RSD	0,90	1,03	0,26	0,00	0,58	0,10
	% Error	4,00	1,17	1,39	1,50	0,33	0,10

^aSolvente usado (HNO₃ 0,5 N) para preparar estándares de curvas de calibración (sin preconcentración). ^bEstándar de concentración baja, preparado en HNO₃ 0,5 N (sin preconcentración). ^cEstándar de concentración alta, preparado en HNO₃ 0,5 N (sin preconcentración). ^dAgua desionizada con adición alta de metales disueltos (sin preconcentración) a pH < 2. ^eBlanco fortificado ajustado a pH 6,00 ± 0.05 con NH₃ y HNO₃. ^fBlanco fortificado^e ajustado nuevamente a pH < 2 con HNO₃. Fuente: Autor

Se realizó análisis estadístico de los resultados, empleando estadística descriptiva con la herramienta complementaria del software Excel para estadística paramétrica (**Tabla 22**) donde se calcularon errores en el QC 1 < 7 % y para el QC 2 ≤ 1%, lo que demostró que el equipo y las curvas de calibración se ajustaban a los parámetros estándar. Así mismo se observó, que en el blanco fortificado el ajuste de pH de (< 2 a 6.00 ± 0.05) provocó un aumento de error para Cd, Cu y Pb de (7.33, 12.8 y 9.50) % respectivamente y disminución de error para Co, Mn y Zn (1.5, 3.5 y 1.50) % respectivamente. Los aumentos en los porcentajes de error al ajustar a pH neutro, se deben al acercamiento del equilibrio con otras especies disueltas por el aumento de pH y la disminución de sus potenciales redox; para validar esta situación se realizó diagramas de Pourbaix en el siguiente ítem. Sin embargo, la lectura final se realizó a pH ácido, por lo tanto, este error fue eliminado.

6.2.9. Resultados en diagramas Pourbaix

En la **Figura 15** se presentan los diagramas Pourbaix Cd, Co, Cu, Mn, Pb y Zn.

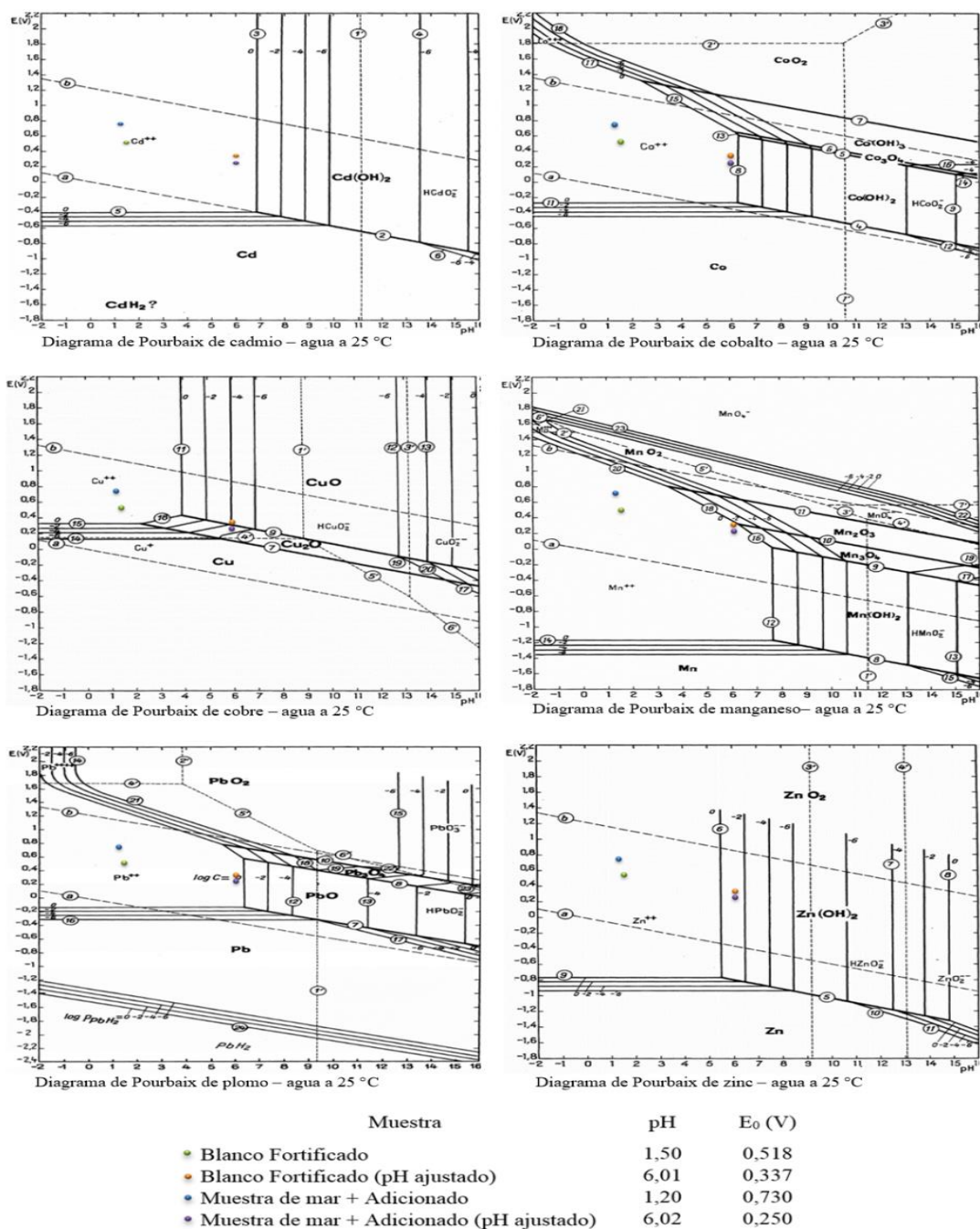


Figura 15. Resultados de pH y potencial redox, graficados en diagramas de Pourbaix para sistemas cadmio, cobalto, cobre, manganeso, plomo y zinc - agua a 25 °C.

Fuente: (Pourbaix, 1974, págs. 420, 328, 390, 293, 492, 412)

Luego de graficar los valores de pH y potencial redox de un blanco fortificado y muestra de mar con adicionados conocidos de metales disueltos obtenidos durante el procedimiento de extracción (ver **Figura 15**) se evidenció que a $\text{pH} < 2$ las especies químicas disueltas de Cd, Co, Cu, Mn, Pb y Zn se encontraban en un área termodinámicamente estable para especies iónicas divalentes (estado de oxidación II). Cuando el pH se ajustó a 6.00 ± 0.05 hubo un descenso en los potenciales redox que generó un desplazamiento oblicuo causado por una reacción con dependencia del pH y potencial (Santamaria & Olivero, 2015). Sin embargo, se conservaron en dicha área, donde se observó un acercamiento al límite con otras especies solubles, lo que explica el aumento del error en Cd, Co y Pb evidenciado en la prueba de Resultados de la influencia del pH en blanco fortificado, debido a que si dos especies químicas solubles se encuentran en equilibrio (cerca de líneas horizontales y verticales del diagrama de Pourbaix) estas pueden coexistir en equilibrio (Muñoz, sf).

En la **Tabla 23** se presentan los detalles de las especies de metales disueltos adicionados en muestras de mar y blancos fortificados, condiciones de pH óptimas de extracción referenciadas por Sohrin et al. (2008) y los resultados obtenidos en los diagramas de Pourbaix en esta investigación.

Tabla 23. *Soluciones estándar de elementos metálicos, condiciones óptimas de extracción y resultados de diagramas de Pourbaix.*

Elemento	Soluciones estándar CRM ^a		Extracción ^b		Diagramas de Pourbaix ^c	
	Especie	solvente	pH	# de oxidación	pH < 2	pH 6,00 ± 0,05
Cd (II)	Cd(NO ₃) ₂	HNO ₃ 0,5 M	4 – 9	(II)	Cd (II)	Cd (II)
Co (II)	Co(NO ₃) ₂	HNO ₃ 0,5 M	4 – 9	(II)	Co (II)	Co (II)
Cu (II)	Cu(NO ₃) ₂	HNO ₃ 0,5 M	1 – 7	(II)	Cu (II)	Cu (II)
Mn (II)	Mn(NO ₃) ₂	HNO ₃ 0,5 M	5 – 9	(II)	Mn (II)	Mn (II)
Pb (II)	Pb(NO ₃) ₂	HNO ₃ 0,5 M	3 – 9	(II)	Pb (II)	Pb (II)
Zn (II)	Zn(NO ₃) ₂	HNO ₃ 0,5 M	4 – 9	(II)	Zn (II)	Zn (II)

^aMateriales de referencia certificados trazables al NIST. ^bCondiciones óptimas de recuperación en blancos fortificados con la resina según (Sohrin, et al., 2008). ^cEspecie disuelta en la cual se encontró el elemento a $\text{pH} < 2$ y $6,00 \pm 0,05$ en blanco fortificado y muestra de mar según puntos graficados en diagramas de Pourbaix para sistemas metal - agua a $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ en este estudio. Fuente: Autor a partir de (Sohrin, et al., 2008)

En la **Tabla 23** se observa que los estados de oxidación de las especies metálicas adicionadas y el pH de trabajo (6.00 ± 0.05) de blancos fortificados y muestras de mar durante la extracción, en este estudio, coinciden con los referenciados por Sohrin et al. (2008). Los estados de oxidación de Cd, Co, Cu, Mn, Pb y Zn disueltos fueron confirmados por los diagramas Pourbaix de forma individual, graficando las variaciones de pH y potencial redox de las muestras y establecer su relación con la eficiencia de la resina NC PA-1. A continuación se presenta un resumen comparativo de los resultados obtenidos para cada metal disuelto estudiado:

6.2.9.1. *Cadmio*. En blancos fortificados se obtuvo una recuperación de (83.4, 93.0 y 80.4) %, para concentraciones de (0.40, 30.0 y 20.0) $\mu\text{g Cd/L}$ respectivamente. Cuando se analizó el filtrado obtenido, tras el paso de la muestra por la resina NC PA-1, se encontró una concentración equivalente al 3.21 % de la concentración adicionada (**Tabla 21**), lo cual corresponde a la única pérdida, ya que en el buffer de lavado no se detectó concentración de Cd. En agua marina se calcularon recuperaciones de (90.0, 95.9, 88.3 y 74.3) %, para concentraciones adicionadas de (3.00, 0.40, 30.0 y 20.0) $\mu\text{g Cd/L}$ respectivamente, con lo cual, se comprobó experimentalmente, que a $\text{pH } 6.00 \pm 0.05$, el proceso de formación del quelato el cadmio disuelto y los ácidos etilendiaminotriacético e iminodiacético inmovilizados en la resina, fue eficiente, por lo tanto, se alcanzaron recuperaciones satisfactorias. Estos resultados son consistentes con otros estudios donde también se preconcentraron muestras de mar y estuarinas con el uso de NC PA1. Xie & Wank (2020) afirmaron obtener recuperaciones de Cd entre (90-115) % con

preconcentración automatizada y lectura por ICP-MS en las mismas condiciones de (Sohrin et al, 2008) quienes reportaron recuperaciones entre (98 y 102) %.

6.2.9.2. *Cobalto*. La recuperación en blancos fortificados fue de (85.6, 90.0 y 77.1) %, para concentraciones de (0.40, 30.0 y 20.0) $\mu\text{g Co/L}$ respectivamente. Cuando se analizó el filtrado obtenido, tras el paso de la muestra por la resina NC PA-1 y el buffer producto del lavado, se encontraron concentraciones equivalentes al (16.1 y 2.95) % respectivamente, de la concentración adicionada (**Tabla 21**). En agua marina se obtuvo una recuperación de (86.2, 88.6, 83.3 y 64.3) %, para concentraciones adicionadas de (3.00, 0.40, 30.0 y 20.0) $\mu\text{g Co/L}$ respectivamente, con lo cual, se comprobó experimentalmente, que a $\text{pH } 6.00 \pm 0.05$, el proceso de formación del quelato entre el Co disuelto y los ácidos etilendiaminotriacético e iminodiacético inmovilizados en la resina, fue eficiente, por lo tanto, se alcanzaron recuperaciones satisfactorias. Estos resultados fueron más altos que los reportados por (Rapp, Schlosser, Rusiecka, Gledhill, & Achterberg, 2017) quienes afirmaron obtener recuperaciones de Co en agua de mar entre (70 y 76) % con preconcentración automatizada usando resina NC PA1 y lectura por ICP-MS. Además (Sohrin et al, 2008) reportaron recuperaciones entre (95 y 105) %.

6.2.9.3. *Cobre*. En blancos fortificados se obtuvo una recuperación de (86.2, 100 y 86.7) %, para concentraciones de (2.50, 40.0 y 60.0) $\mu\text{g Cu/L}$ respectivamente. Cuando se analizó el filtrado obtenido, tras el paso de la muestra por la resina NC PA-1, se encontró una concentración equivalente al 3.76 % de la concentración adicionada (**Tabla 21**), lo cual corresponde a la única pérdida, ya que, en el buffer de lavado, no se detectó concentración de Cu. En agua marina se calcularon recuperaciones de (85.8, 89.0, 90.2 y 87.3) %, para concentraciones adicionadas de (2.50, 20.0, 40.0 y 60.0) $\mu\text{g/L}$ respectivamente, con lo cual, se comprobó experimentalmente, que a $\text{pH } 6.00 \pm 0.05$, el proceso de formación del quelato entre el cobre disuelto y los ácidos etilendiaminotriacético e iminodiacético inmovilizados en la resina, es eficiente, por lo

tanto, se alcanzaron recuperaciones satisfactorias. Estos resultados fueron más bajos que los reportados por (Rapp et al., 2017) quienes afirmaron obtener recuperaciones de Cu en agua de mar entre (99 y 106) % con preconcentración automatizada usando resina NC PA1 y lectura por ICP-MS. Además (Sohrin et al, 2008) reportaron recuperaciones entre (93 y 102) %.

6.2.9.4. *Manganeso*. En blancos fortificados se obtuvo una recuperación de (96.4, 71.1 y 85.0) %, para concentraciones de (0.40, 20.0 y 30.0) $\mu\text{g Mn/L}$ respectivamente. Cuando se analizó el filtrado obtenido, tras el paso de la muestra por la resina NC PA-1 y el buffer producto del lavado, se encontraron concentraciones equivalentes al (21.7 y 9.70) % respectivamente, para el blanco fortificado con 20.0 $\mu\text{g Mn/L}$ (**Tabla 21**), las cuales representan las pérdidas durante el procedimiento. En agua marina se calculó una recuperación de (84.4, 125, 54.8 y 80.4) %, para concentraciones adicionadas de (0.40, 3.00, 20.0 y 30.0) $\mu\text{g Mn/L}$ respectivamente, con lo cual, se comprobó experimentalmente, que a $\text{pH } 6.00 \pm 0.05$, el proceso de formación del quelato entre el Mn disuelto y los ácidos etilendiaminotriacético e iminodiacético inmovilizados en la resina, fue eficiente, por lo tanto, se obtienen recuperaciones satisfactorias. Estos resultados fueron más bajos que otros estudios donde también preconcentraron muestras de mar y estuarinas con el uso de NC PA1. Xie & Wank (2020) afirmaron obtener recuperaciones de Mn entre (90-115) % con preconcentración automatizada y lectura por ICP-MS en las mismas condiciones de (Sohrin et al, 2008) quienes reportaron recuperaciones entre (95 y 97) %. En contraste (Rapp et al.,2017) publicaron recuperaciones de 24%.

6.2.9.5. *Plomo*. En blancos fortificados se obtuvo una recuperación de (70.0, 61.4, 87.5 y 63.8) %, para concentraciones de (4.00, 5.00, 60.0 y 100) $\mu\text{g Pb/L}$ respectivamente. Se analizó directamente el blanco fortificado a $\text{pH } 6.00 \pm 0.05$ (sin preconcentración con la resina NC PA-1) y se encontró que la concentración disminuyó

en un 11.5 % de la concentración adicionada de 100 µg/L, además, 13.7 % se encontró en el filtrado y 3.39 % en el buffer producto del lavado, lo que corresponde a pérdidas durante el procedimiento de preconcentración (17.1% en total). En agua marina se obtuvo una recuperación de (90.7, 90.2, 89.6 y 81.2) %, para concentraciones adicionadas de (5.00, 30.0, 60.0 y 100) µg Pb/L respectivamente. De este modo, se comprueba experimentalmente, que a pH 6.00 ± 0.05 , aunque se pierde un porcentaje considerable de las concentraciones adicionadas, al final se alcanzan valores aceptables, por lo tanto, el proceso de formación del quelato, entre el plomo disuelto y los ácidos etilendiaminotriacético e iminodiacético inmovilizados en la resina, fue satisfactorio. Estos resultados fueron comparables con los reportados por (Rapp et al., 2017) quienes afirmaron obtener recuperaciones de Pb en agua de mar entre (96.9 y 90.1) % con preconcentración automatizada usando resina NC PA1 y lectura por ICP-MS. Además (Sohrin et al, 2008) reportaron recuperaciones entre (95 y 101) %.

6.2.9.6. *Zinc*. La recuperación en blancos fortificados fue de (103, 64.1, 92.6 y 80.2) %, para concentraciones de (5.00, 10.0, 40.0, y 100) µg Zn/L respectivamente. Se analizó el filtrado obtenido, tras el paso de la muestra por la resina NC PA-1 y buffer producto del lavado de la misma, y se encontraron concentraciones equivalentes al (7.49 y 2.40) % de la concentración adicionada de 50.0 µg Zn/L (**Tabla 21**), lo cual corresponde a una pérdida total de 9.89 %. En agua marina la recuperación es (82.5, 0.00, 0.00 y 87.1) %, para concentraciones adicionadas de (5.00, 30.0, 40.0 y 100) µg Zn/L respectivamente; los valores de recuperación de cero para adicionados de 30.0 y 40.0 µg/L, corresponden a los resultados del día 16-09-2019, donde se detectó una contaminación en la muestra real, lo que hizo que su concentración fuera más alta que la de los adicionados, por lo tanto se atribuyó a un error aleatorio y no sistemático, con lo cual, se comprueba experimentalmente, que a pH 6.00 ± 0.05 , el proceso de formación del quelato entre el zinc disuelto y los ácidos etilendiaminotriacético e iminodiacético inmovilizados en la resina, es eficiente. Estos resultados fueron más bajos que los reportados por (Rapp et al., 2017) quienes afirmaron obtener recuperaciones de Zn en agua de mar entre (91.6 y

98.4) % con preconcentración automatizada usando resina NC PA1 y lectura por ICP-MS. Además (Sohrin et al, 2008) reportaron recuperaciones entre (95 y 105) % y (Takano, et al., 2017) publicaron recuperaciones de 99.8 %.

6.3. Conclusiones

Se logró la implementación del sistema de extracción y concentración de metales disueltos en agua de mar utilizando como base un colector de vacío, en el cual se fija una jeringa, y por medio de una válvula plástica de tres vías se controla el paso de los reactivos y las muestras, a través de la resina NC PA-1. Finalmente, para eluir los metales de interés, en contraflujo se conecta a la jeringa que contiene la resina, otra jeringa cargada con HNO_3 1 M por medio de una manguera y se invierte. El eluato se recoge en una probeta plástica graduada y finalmente trasvasado en un vial plástico hasta su análisis por ICP-OES. Se acondicionaron en total dos columnas con resina NC PA-1; una para la extracción y concentración de metales disueltos en muestras de agua de mar y la otra para limpieza del buffer $\text{HAcO-NH}_4\text{AcO}$ 0,05 M (pH 6).

La inyección manual de los reactivos y las muestras a través de la resina con jeringas plásticas de 20 mL, fue elegida para el desarrollo del procedimiento porque presentó mejor desempeño que la inyección por gravedad, debido a que la acción del émbolo permitió aumentar el flujo de los componentes, lo cual redujo el tiempo final de cada ciclo y adicionalmente se evita contaminación cruzada o salpicaduras.

Se logró comprobar experimentalmente, que los valores de pH, durante el procedimiento de extracción y concentración de metales disueltos en el blanco, muestra y blanco fortificado, a través de la resina NC PA-1, se encuentran dentro del rango

establecido en el procedimiento ($\text{pH } 6.00 \pm 0.05$). Así mismo se demuestra que el pH es estable, por al menos 24 horas, bajo las condiciones de trabajo del LABCAM.

La reducción de 0.4 ‰ en la salinidad de la muestra de mar, tras su paso por la resina NC PA-1 (ver **Tabla 14**), indicó que una pequeña parte de las sales, quedan en la misma, no obstante, al realizar el lavado con 40 mL de buffer 0.05 M, se observó un aumento de salinidad equivalente en el buffer. Por lo anterior se concluye que las sales residuales en la resina después del paso de la muestra, es eliminada en el lavado con buffer HAcO-NH₄AcO 0,05 M (pH 6), con lo que se comprobó que el eluato obtenido al final del procedimiento de extracción, estaba libre de interferencias ocasionadas por sales para la lectura en el ICP-OES.

Se determinó experimentalmente que el HNO₃ y HCl concentrados, utilizados para la preparación de estándares y ajuste de pH, no aportan una concentración significativa de metales ya que se comprobó que estos presentan concentraciones de los metales objetivo, por debajo de los límites inferiores de trabajo (ver **Tabla 15**), por lo tanto, los dos pueden usarse para dicha actividad. Sin embargo, para el desarrollo de la validación se usará el HNO₃ concentrado, debido a que es menos volátil, lo cual permite manipularlo con una mayor seguridad.

A partir de las pruebas realizadas con análisis directo del buffer HAcO-NH₄AcO 0,05 M (pH 6), antes de limpiarlo y de los extractos concentrados, después de cada limpieza con la resina NC PA-1, se encontró que, en la lectura directa del buffer sin limpiar, no es detectado ningún metal disuelto. Sin embargo, en el extracto generado después de la primera limpieza de 1 litro de buffer, se detecta una concentración de 18.8 µg Zn/L, en los extractos de la segunda, tercera y cuarta limpieza, se detectaron concentraciones de (2.24, 1.31 y 1.22) µg Zn/L respectivamente (ver **Figura 13**). Para el resto de los metales

no se encontraron concentraciones significativas. Se concluye que al realizar dos limpiezas del buffer es suficiente para remover la concentración de zinc presente ya que en la tercera y cuarta limpieza no hay remoción significativa, además la forma más eficiente de lograrlo es acondicionando la columna por cada litro de buffer filtrado (ver **Figura 12**).

El factor de concentración (FC) es una relación entre el volumen de muestra y el volumen de extracto obtenido al final del procedimiento de preconcentración, por lo tanto, es posible aumentarlo o disminuirlo. La implementación de la presente metodología, se inició con FC:8 es decir que la muestra se concentró 8 veces (120 mL de muestra y un extracto final de 15 mL). Sin embargo, se aumentó a FC:13.3 es decir que la muestra se concentró 13.3 veces, agrandando el volumen de muestra a 200 mL y manteniendo un extracto de 15 mL, con el fin de elevar la concentración de los metales de interés en el extracto y mejorar la respuesta analítica en el ICP-OES.

Ecuación 11. Fórmula para calcular el factor de concentración (Sohrin et al. 2008)

$$FC = \frac{A}{B}$$

Dónde:

FC = Factor de concentración

A = Volumen de la muestra en mL

B = Volumen de extracto o eluato final en mL

Ecuación 12. Fórmula para calcular la concentración real de cada metal disuelto
(INVEMAR, 2019b)

$$X = \frac{C * B}{A} \quad \text{ó} \quad X = \frac{C}{FC}$$

Dónde:

X = concentración real del metal disuelto (µg/L)

C = lectura obtenida por ICP-OES (µg/L) del metal disuelto en el extracto o eluato.

Luego de graficar un blanco fortificado y una muestra con adicionados conocidos de metales disueltos en diagramas de Pourbaix (ver **Figura 15**), se encontró que para Cd, Co, Cu, Mn, Pb y Zn a pH 6.00 ± 0.05 predomina su especie iónica divalente, lo cual permitió que el proceso de formación del quelato entre dichos metales disueltos y los ligandos (ácidos etilendiaminotriacético e iminodiacético) inmovilizados en la resina, fuera eficaz, por lo tanto, se logró alcanzar recuperaciones satisfactorias entre (71.1 a 103) %.

Finalmente, se concluye que la metodología implementada en el LABCAM, para extracción y concentración de metales disueltos en agua de mar a partir de la resina *NC PA-1*, aplica satisfactoriamente para Cd, Co, Cu, Mn, Pb y Zn a pH 6.00 ± 0.05

6.4. Recomendaciones

Microfiltrar por membrana de tamaño de poro de $0.2 \mu\text{m}$, todos los reactivos que se inyecten a través de la resina *NC PA -1*, durante el procedimiento de extracción y concentración de metales en aguas de mar, para evitar que material particulado contamine o tape la resina.

La incorporación de un equipo automatizado para la extracción y concentración de muestras de agua de mar, sería conveniente en términos de eficiencia, ya que se podría trabajar un mayor número de muestras / día y además, en la parte analítica, podría mejorar la precisión, debido a control de flujos y evitar contaminación cruzada.

7. FASE 2 - VALIDACIÓN DE CD, CO, CU, FE, NI, MN, PB Y ZN DISUELTOS EN MUESTRAS DE MAR A PARTIR DE LA RESINA *NC PA-1* Y DETERMINACIÓN POR ICP-OES

En esta fase experimental se encuentran las evidencias de la validación que demuestran el desempeño del método de preconcentración y limpieza de muestras de mar con la resina *NC PA-1*, para determinación de Cd, Co, Cu, Mn, Pb y Zn disueltos por ICP-OES, a partir de valores experimentales de precisión y veracidad, que sirven como medidas del nivel de confianza, para su aplicación. La validación fue desarrollada bajo las condiciones ambientales, operacionales y de calidad establecidas, en el LABCAM.

El principio del método se basa en la extracción y concentración de Cd, Co, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb y Zn, presentes en muestras de agua de mar, previamente filtradas y acidificadas (SM 3030B); el pH de la muestra es ajustado a 6.00 ± 0.05 , e inyectado a través de una columna en fase sólida, de la resina quelante *NC PA-1*, compuesta por un polímero de metacrilato hidrofílico, en el que se encuentran los ácidos etilendiaminotriacético e iminodiacético inmovilizados. El paso de la muestra por la resina permite la formación de quelatos con los metales de interés presentes, los cuales son retenidos en la fase sólida, luego la resina es lavada con Buffer de $\text{HAcO-NH}_4\text{AcO}$ (0,05 M a pH 6.00), logrando la eliminación de las sales marinas y luego, los metales disueltos son eluidos en sentido contrario de la inyección de la muestra, con ácido nítrico 1 M. Finalmente el eluato obtenido es almacenado en recipiente plástico y analizado según la norma 3120 B del Standard Methods (APHA, AWWA y WEF, 2017). El método utiliza la técnica de Espectrometría de Emisión Atómica con Plasma Acoplado Inductivamente (ICP-OES, por sus siglas en inglés), que emplea una fuente de plasma de acoplamiento inductivo para disociar y excitar los átomos o iones de los elementos presentes en la muestra. Los átomos o iones excitados emiten radiación de una longitud de onda

característica de acuerdo con cada elemento. Un dispositivo fotodetector mide la intensidad de la radiación y la transforma en una señal eléctrica que es registrada por un software. Esta intensidad de la radiación emitida es proporcional a la concentración de los átomos o iones presentes en la muestra y puede ser cuantificada mediante la ley de Beer Lamber (Arenas & López, 2004).

7.1. Descripción metodológica fase 2

La validación comprende, desde el montaje del sistema de preconcentración manual, de muestras de agua de mar, por medio de la resina *NC PA-1* implementado en la fase 1, hasta la determinación de Cd, Co, Cu, Fe, Ni, Mn, Pb y Zn disueltos en los extractos obtenidos, por ICP-OES, según las normas SM 3030B y SM 3120 B. Los resultados obtenidos, fueron analizados estadísticamente mediante el empleo del software Excel para realizar la prueba T para rechazo de datos anómalos con un 95 % de confianza, Pruebas de contraste F y t para dos colas, análisis de estadística descriptiva y regresión, con el fin de evaluar las figuras de mérito con los criterios de aceptación de establecidos en el siguiente ítem y a partir de las evidencias obtenidas realizar una declaración de aptitud del método.

7.1.1. Figuras de mérito

Se evaluaron figuras de mérito (ver Tabla 24), según lo dispuesto por el LABCAM.

Tabla 24. Figuras de mérito evaluadas en la validación de metales disueltos

Prueba/figura de mérito	Aplica		Réplicas	Criterio de aceptación
	Si	No		
Intervalo lineal	x		3	Inspección visual del comportamiento lineal con respecto a la respuesta analítica. Coeficiente de correlación ≥ 0.995

Prueba/figura de mérito	Aplica		Réplicas	Criterio de aceptación
	Si	No		
Sensibilidad	x		3	Obtenida experimentalmente
Límite de detección del método	x		10	Se analiza una variación de los resultados diferente a cero
Límite de cuantificación	x		10	Menor o igual al nivel inferior estimado en el intervalo de trabajo.
Veracidad del método	x		10	Métodos extractivos: error < 30% y recuperación (70 a 130) % Para trazas: Menor a 100 ppb: error <50% y recuperación (60 – 110) % Mayor a 100 ppb: error <40% y recuperación (70 – 130) % Menor a 1 ppb: error <60% y recuperación (40 – 120) %
Rango del método	x		10	Obtenido experimentalmente
Repetibilidad	x		10	% RSD < 15
Repetibilidad intermedia	x		10	% RSD < 30
Robustez	x			Según pruebas F y t de significancia. Si no hay diferencias significativas el método es robusto.
Selectividad	x		3	Obtenida experimentalmente con la resina NC PA-1
Incertidumbre	x			Calculada teóricamente.

Fuente: INVEMAR (2018b)

Para comprobar la selectividad de la resina, fueron tenidos en cuenta aspectos que se consideran importantes en la extracción y lectura como:

Matriz: Agua de mar (Adicionados), con salinidad superior a 35, la cual representa la mayor interferencia del método y agua desionizada (Blancos fortificados).

Especie química: Metales disueltos objetivo, adicionados a partir de soluciones trazables NIST, disueltas en HNO₃ (Ver **Tabla 23**).

Estados de oxidación y pH: Se comparó los estados de oxidación de las soluciones adicionadas y las determinadas teóricamente a partir de diagramas de Pourbaix, con las reportadas por (Sohrin, et al., 2008) a determinados rangos de pH (Ver **Tabla 23**).

En esta fase, se registran y/o analizan los resultados de la implementación y validación realizadas, para evaluar el desempeño de la metodología, a través de su uso en matrices de agua marina.

7.1.2. Toma y preservación de muestras

Se recolectaron 20 L de agua superficial de océano abierto a 80 km de la Bahía de Santa Marta, en un recipiente de polietileno. La muestra fue filtrada a través de membranas de 0.20 μm y preservada con 20 mL de ácido nítrico concentrado, según lo establecido en el procedimiento PR-LABCAM-18 “Toma, preservación y almacenamiento de muestras” (INVEMAR, 2018d). La muestra se recepcionó en el formato FT-LABCAM-101 y se identificó, con código interno del laboratorio 13180, posteriormente se almacenó en cuarto frío a temperatura $< 6\text{ }^{\circ}\text{C}$, hasta su análisis.

7.1.3. Equipos y materiales

En la Tabla 25, se presentan los equipos empleados para el desarrollo de la metodología.

Tabla 25. *Equipos empleados en la validación de metales disueltos*

Nombre del equipo	Marca/ Modelo	Serial N°	Código Inventario	Última calibración / Mantenimiento Año-Mes-Día
Espectrómetro de emisión atómica acoplado a plasma inductivamente ICP-OES	SHIMADZU / ICPE-9820	B42045300223	21011758	29/08/2019
Purificador de agua	MERCK / MILLI Q REFERENCE	F5MA31999A	21011662	20/09/2019
Balanza analítica	OHAUS/ DV215CO	1124010846	21011020	13/09/2019
pH metro	WTW / SET 3110	09291052	21010889	01/11/2018
Conductímetro	WTW / 3210	13290324	21011370	31/10/2018

Nombre del equipo	Marca/ Modelo	Serial N°	Código Inventario	Última calibración / Mantenimiento Año-Mes-Día
Oxímetro	WTW / OXI 3210	9350008	21010905	01/11/2018
Bomba de vacío	GAST / 1/8 HP	0516005315	21011888	23/11/2018
Agitador magnético	IKA / RST BASIC	822744	822744	20/02/2018

Fuente: Autor

A continuación, se relacionan otros materiales necesarios para el desarrollo de la validación:

- Colector de vacío
- Transferpipetas de (100, 1000) μ L, (5 y 10) mL
- Balones volumétricos de 10, 50, 100 250, 500 y 1000 mL tipo A
- Beaker plásticos de 250 mL
- Papel filtro de 0.45 μ m de éster de celulosa
- Membrana de tamaño de poro de 0.2 μ m
- Probetas de (25, 50, 100 mL, 250) mL
- Resina *NC PA-1*
- Membrana Nuclepore de tamaño de poro de 0.2 μ m (Whatman)
- Frascos de plástico (polietileno) para almacenar soluciones de (100, 250, 500, 1000 y 2000) mL
- Viales plásticos de 15mL
- Embudos plásticos pequeños
- Gradillas

7.1.4. Reactivos

- Agua desionizada
- Ácido nítrico concentrado SupraPur
- Ácido acético glacial, grado reactivo

- Amoníaco concentrado, grado reactivo
- Alcohol metílico, grado reactivo
- Acetona, grado reactivo
- Ácido ascórbico, grado reactivo
- Acetato de amonio, grado reactivo
- Patrones certipur de Cd, Co, Cu, Fe, Ni, Mn, Pb y Zn de 1000 mg/L
- Argón líquido o gaseoso 5.0 (99,999% pureza)

Materiales de referencia certificados: En la **Tabla 26** , se encuentra información específica, de los materiales de referencia que se emplearon para preparar soluciones intermedias y estándares para la elaboración de las curvas de calibración.

Tabla 26. *Materiales de referencia certificados*

Nombre	Concentración	Marca	Lote	Presentación
Certipur® Ni	1000 mg /L	PanReac	1315814	100 mL
Certipur® Cd	1000 mg /L	Merck	HC60709577	100 mL
Certipur® Co	1000 mg /L	Merck	HC71898785	100 mL
Certipur® Cu	1000 mg /L	Merck	HC74050486	100 mL
Certipur® Fe	1000 mg /L	PanReac	1455026	100 mL
Certipur® Mn	1000 mg /L	Merck	HC73535489	100 mL
Certipur® Pb	1000 mg /L	Merck	HC85709276	100 mL
Certipur® Zn	1000 mg /L	Merck	HC85452506	100 mL
Estándar certificado	Ver Tabla 37	Sigma Aldrich- RTC	LRAB5578	500 mL

Fuente: Autor

7.1.5. Operaciones de análisis

En este numeral se presentan las condiciones ambientales instrumentales y operacionales bajo las cuales se trabajó durante la validación

7.1.5.1. *Condiciones básicas para extracciones y lecturas.* Las condiciones ambientales del laboratorio, se conservaron a temperaturas entre (20,5 y 23,1) °C y humedad relativa entre (41,0 y 54,0) %, durante los periodos de preconcentración y lectura de las muestras. Se realizaron lecturas de las curvas de calibración en cada secuencia de muestras, entre las 8 am y 10 pm. Los mix de estándares para la curva de calibración combinada se prepararon según la **Tabla 4**, a partir de materiales de referencia certificados (*Tabla 26*) en HNO₃ 0,5 N.

7.1.5.2. *Condiciones instrumentales del ICP-OES.* En la **Tabla 27** se presenta la información del método de lectura.

Tabla 27. *Condiciones instrumentales*

Modo de ignición	Normal (agua)
instrumentos de enganche	Mini antorcha
Radio frecuencia de poder	1,20 kW
Flujo Gas plasma	10,00 L/min
Flujo Gas auxiliar	0,60 L/min
Flujo Gas de arrastre	0,70 L/min
Tiempo de exposición	30 seg
Condición	Rango amplio
Dirección	Axial
Lavado con solvente	(Bajo) 30 seg
Lavado con muestra	(Bajo) 30 seg
Velocidad de rotación	(Baja) 20 r.p.m.

Fuente: (SHIMADZU, 2014)

7.1.5.3. *Optimización y calibración del ICP-OES.* La optimización y ajuste del ICPE-9820, se realizó siguiendo el PR-LABCAM-62 “Procedimiento para la determinación de

metales en aguas por ICP-OES” (INVEMAR, 2018c). En el **Diagrama 6**, se realiza una breve descripción del procedimiento:

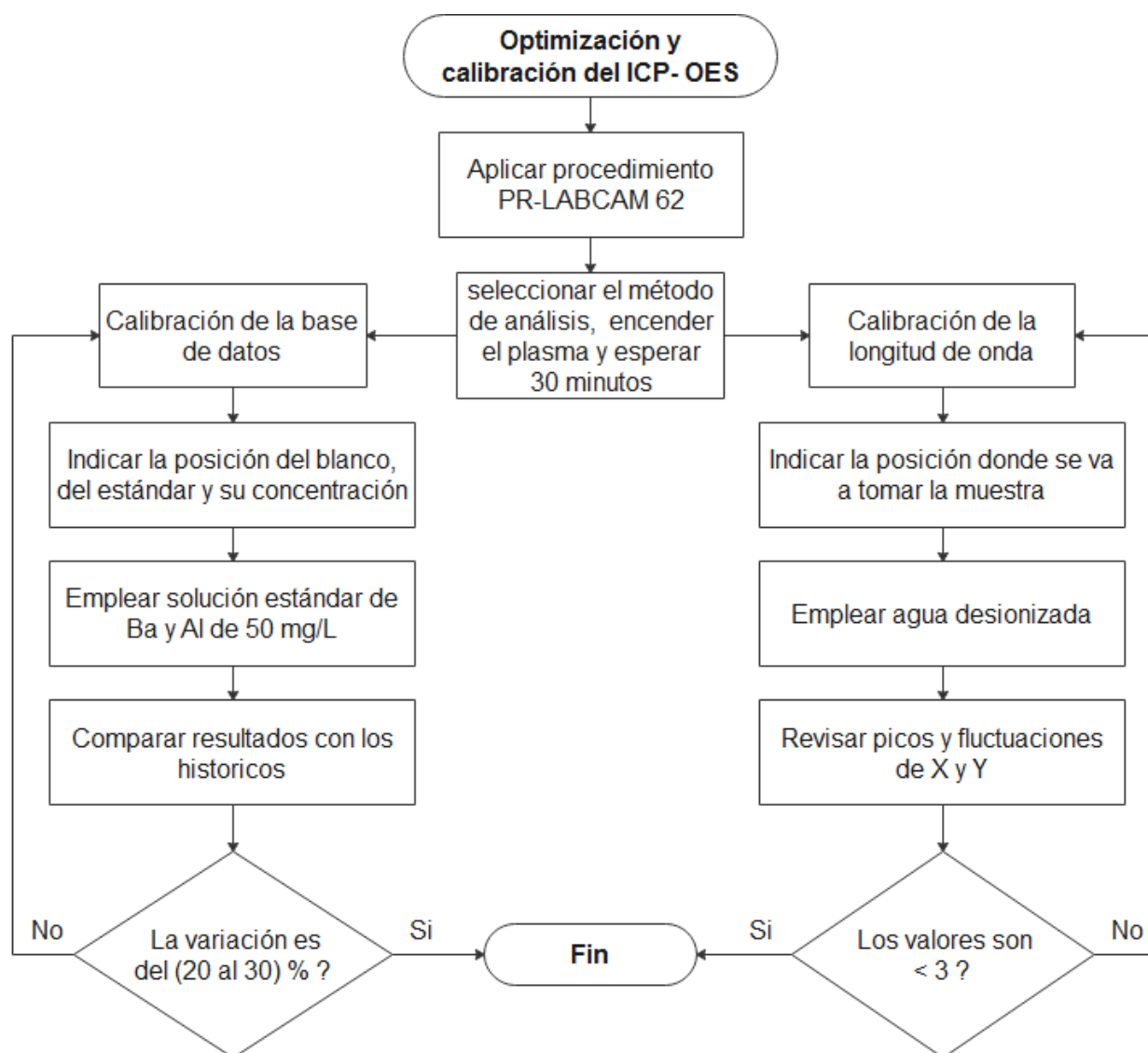


Diagrama 6. Optimización y calibración del ICP-OES

Fuente: Autor a partir de (INVEMAR, 2018c)

Con base en las anteriores condiciones, se analizó el set de muestras (Ver **Tabla 28**) en días diferentes y por dos analistas.

Tabla 28. Muestras y blancos fortificados analizados en la Validación

Elemento	Set de muestras preconcentradas µg/L								
	Blanco	BF.b ^a	BF.m ^b	BF.a ^c	MRm ^d	MRm +Ab ^e	MRm +Am ^f	MRm +Aa ^g	MI ^h
Cd	~0.0	1,00	10,0	20,0		1,00	10,0	20,0	675
Co	~0.0	1,00	10,0	20,0		1,00	10,0	20,0	339
Cu	~0.0	5,00	30,0	60,0		5,00	30,0	60,0	484
Mn	~0.0	1,00	10,0	20,0		1,00	10,0	20,0	426
Pb	~0.0	10,0	50,0	100		10,0	50,0	100	1000
Zn	~0.0	10,0	50,0	100		10,0	50,0	100	888

^aBlanco fortificado bajo. ^bBlanco fortificado Medio. ^cBlanco fortificado Alto. ^dMuestra Real Marina 13180. ^eMuestra Real Marina con adicionado bajo. ^fMuestra Real Marina con adicionado medio. ^gMuestra Real Marina con adicionado alto. ^hMuestra interlaboratorio (SIGMA ALDRICH – RTC de metales traza disueltos, lote: LRAB5578). Fuente: Autor

7.1.6. Procedimiento de los ensayos

A continuación, se realiza una descripción de los procedimientos empleados para la preconcentración de blancos, muestras de mar y su posterior lectura.

7.1.6.1. *Preconcentración de muestras de mar.* Todos los ensayos de preconcentración en muestras de mar y sus adicionados, se realizaron siguiendo el procedimiento descrito en el **Diagrama 7**.

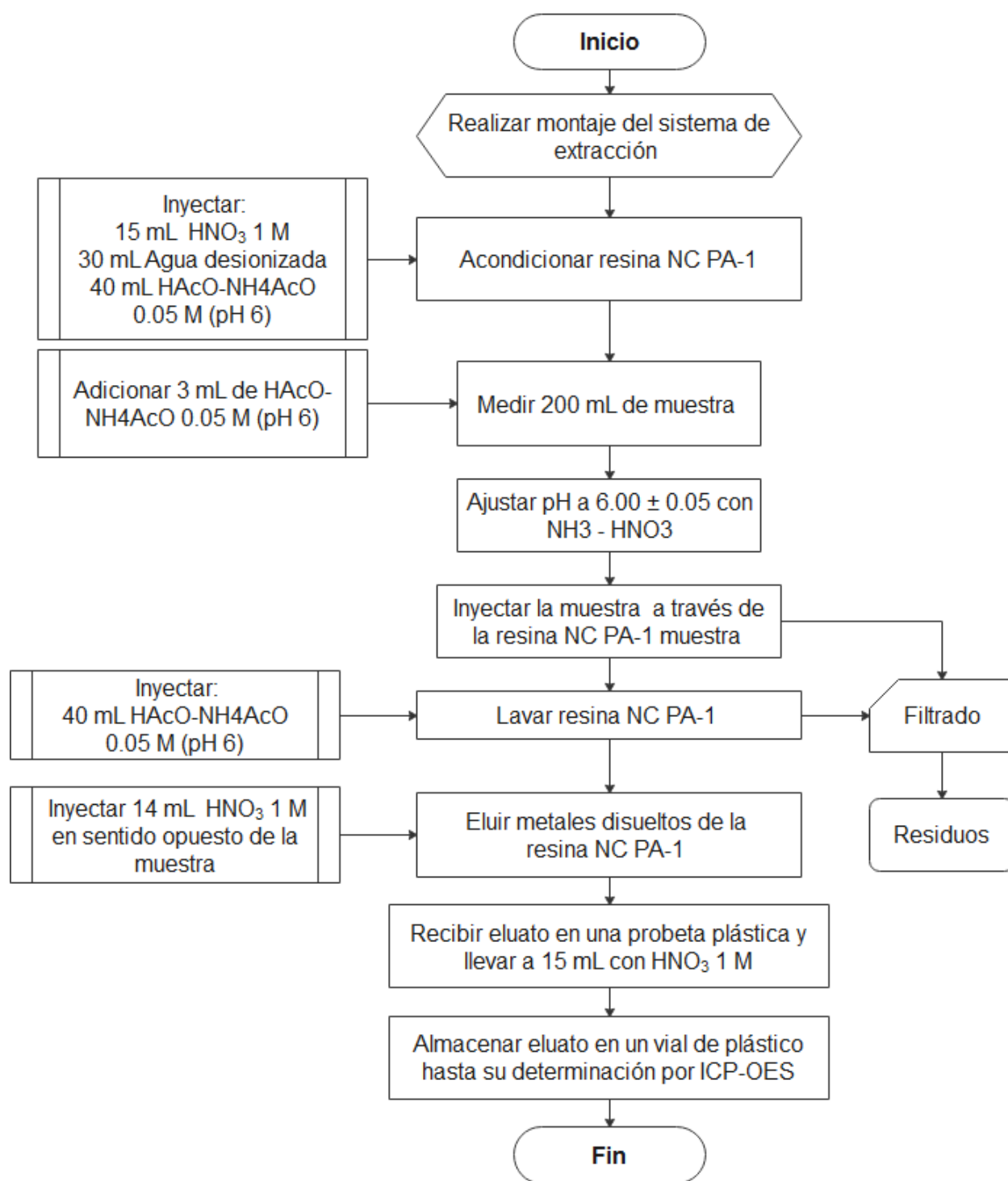


Diagrama 7. Preconcentración de muestras de mar

Fuente: Autor, adaptado de (Sohrin et al., 2008)

7.1.6.2. *Preconcentración de blancos fortificados.* En el **Diagrama 8**, se expone el procedimiento para preconcentración de blancos.

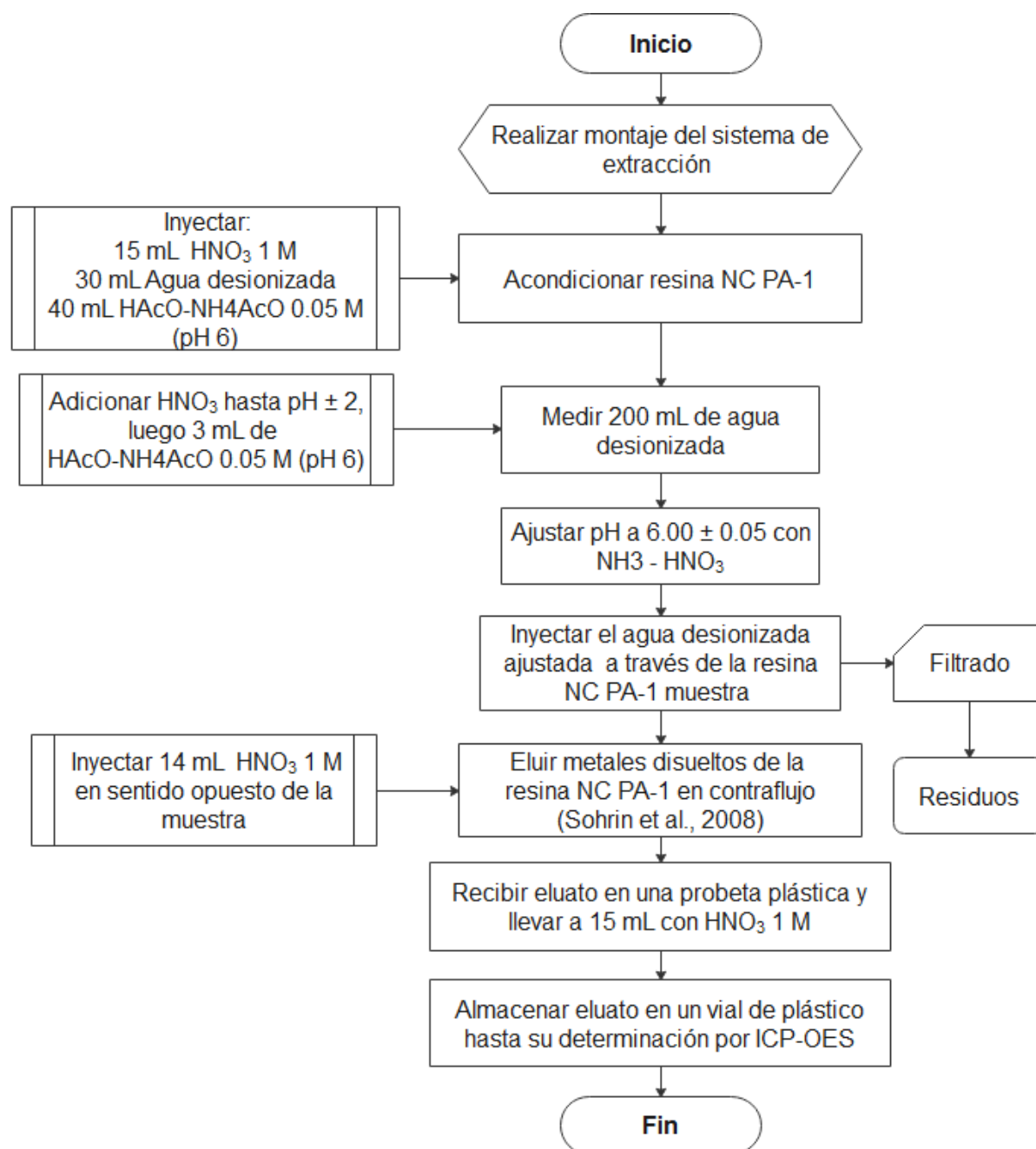


Diagrama 8. Preconcentración de blancos fortificados

Fuente: Autor, adaptado de (Sohrin et al., 2008)

7.1.6.3. *Lectura de muestras por ICP-OES.* Los extractos de muestras, y blancos fortificados, se cuantificaron siguiendo lo descrito en el PR-LABCAM-62 “Procedimiento para la determinación de metales disueltos en aguas por ICP-OES” (INVEMAR, 2018c). En el **Diagrama 9** se hace una descripción:

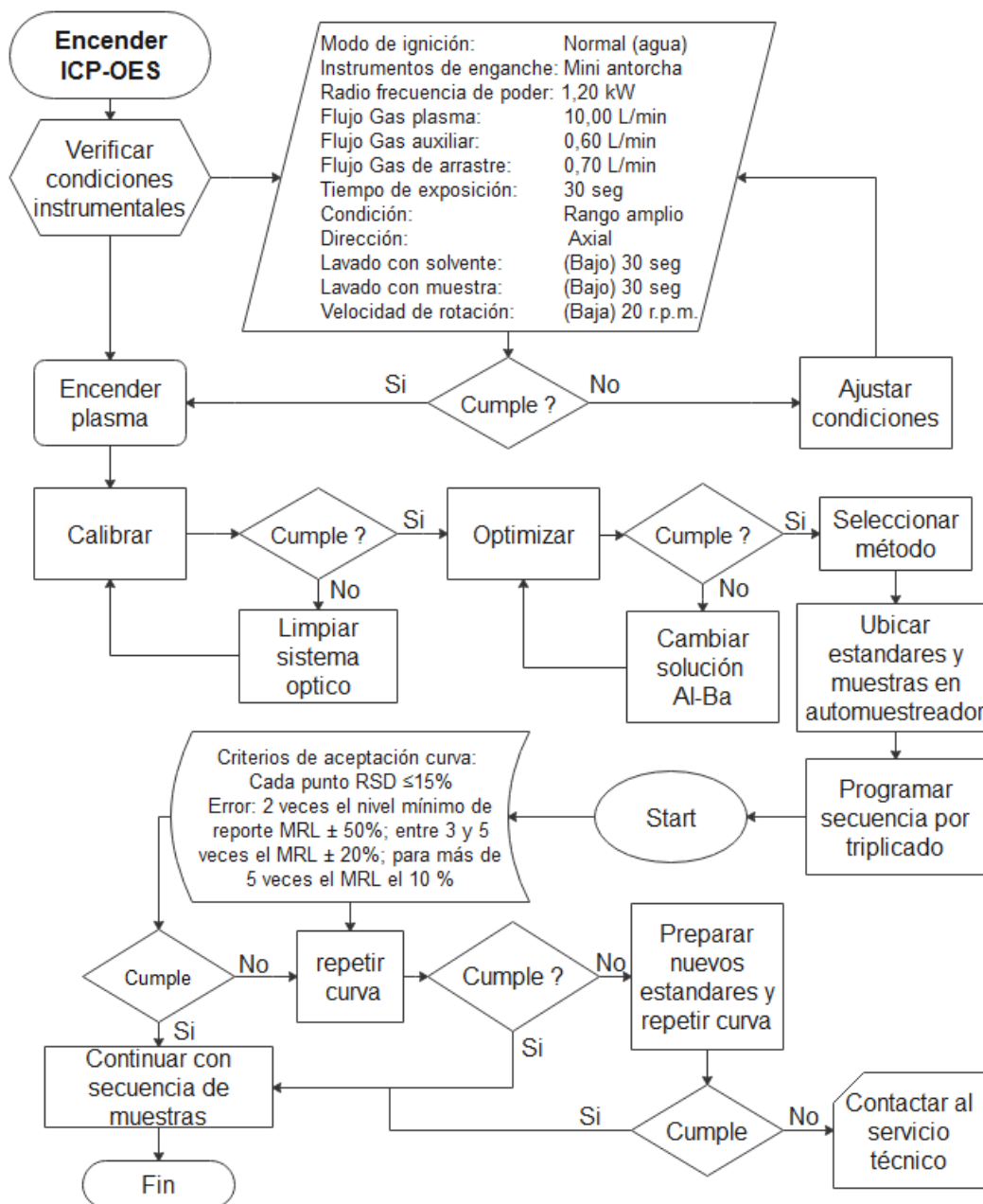


Diagrama 9. Lectura de muestras por ICP-OES

Fuente: Autor a partir de (INVEMAR, 2018c)

7.1.7. Cálculos

El instrumento ICP-OES reporta la concentración de cada metal en unidades de $\mu\text{g/L}$. Si la muestra fue diluida, multiplicar por el factor de dilución para cada uno de los metales (INVEMAR, 2018c) según la ecuación:

Ecuación 13. Fórmula para calcular la concentración real de metales disueltos con Fd

$$C_M (\mu\text{g/L}) = c (\mu\text{g/L}) * Fd$$

Donde:

C_M = Concentración final del extracto o eluato $\mu\text{g/L}$, obtenida por ICP-OES

c = Concentración de la lectura dada por el instrumento del extracto o eluato $\mu\text{g/L}$

Fd = Factor de dilución

En la preconcentración, se genera un factor de concentración que puede ser calculado mediante la siguiente formula:

Ecuación 11. Fórmula para calcular el factor de concentración (Sohrin et al. 2008)

$$FC = \frac{A}{B}$$

Dónde:

FC = Factor de concentración

A = Volumen de la muestra en mL

B = Volumen de extracto o eluato final en mL

Las fórmulas, para calcular la concentración real de cada metal disuelto, son las siguientes:

Ecuación 12. Fórmula para calcular la concentración real de cada metal disuelto (INVEMAR, 2019b)

$$X = \frac{C_M * B}{A} \quad \text{ó} \quad X = \frac{C_M}{FC}$$

Dónde:

X = Concentración real del metal disuelto ($\mu\text{g/L}$)

C_M = Concentración final del extracto o eluato $\mu\text{g/L}$, obtenida por ICP-OES

7.2. Resultados y discusión de prevalidación

A continuación, se presentan los resultados de las figuras de mérito evaluadas antes del proceso de validación:

7.2.1. Linealidad

La linealidad del método, fue determinada, a partir de las curvas de calibración realizadas por triplicado para cada elemento. Los resultados de intensidad Vs concentración fueron graficados y se calcularon coeficientes de correlación, pendiente e intercepto. En la sección 6.2.1 Resultados de regresión lineal curvas de calibración de la fase 1, se evidencia que en cada caso se cumplió con el criterio visual de linealidad y el criterio de aceptación para el coeficiente de correlación $r \geq 0,995$.

7.2.2. Sensibilidad

La sensibilidad fue determinada a partir del promedio de las pendientes obtenidas en tres curvas de calibración, de acuerdo al método recomendado por (Eurolab España et al., 2016). Los resultados se presentan en La Tabla 29.

Tabla 29. *Sensibilidad de metales disueltos*

Elemento	Sensibilidad (Intensidad/ μg)
Cd	2,3245
Co	1,4792

Cu	6,3087
Mn	15,2901
Pb	0,1558
Zn	1,4180

Fuente: Autor

La sensibilidad es evaluada por la variabilidad en la respuesta del equipo por cada 1 µg/L del mensurando. Ejemplo: Para una variación de 1 µg/L de cadmio se tiene una respuesta en el equipo de 2,3245 de intensidad.

7.2.3. Estimación del Límite de Detección del Método (LDM) y Límite de Cuantificación del Método (LCM).

Se llevaron a cabo mediciones de HNO₃ 1 M, sin preconcentración y agua desionizada preconcentrada (Ver Tabla 16). Sin embargo, los resultados obtenidos fueron menores al límite de inferior de trabajo a excepción del zinc. Se calcularon valores imprecisos, en términos de RSD para los elementos analizados, razón por la cual, se emplearon adicionados bajos en muestra real marina de código interno 13180, con los que se estimaron y confirmaron los límites de detección del método (LDM) y límites de cuantificación del método (LCM), a partir de la desviación estándar, mediante las siguientes formulas:

Ecuación 14. Determinación del LDM

$$\text{LDM estimado} = t_{n-1}$$

Ecuación 15. Determinación del LCM

$$\text{LDM estimado} = 10 \times s$$

Donde:

t_{n-1} = Valor estadístico tabulado de t-Student a un nivel de confianza del 99%.

s = Desviación estándar de las concentraciones adicionadas.

En la Tabla 30, se muestran los LDM y LCM estimados, así como los LCM confirmados.

Tabla 30. *LDC y LCD estimados y confirmados en agua de mar*

Elemento	Concentraciones en µg/L			Serie de datos
	LDM Estimado FC: 13,3	LCM Estimado FC: 13,3	LCM Confirmado FC: 13,3	
Cd	0,024	0,09	0,40	Ver APÉNDICE A
Co	0,056	0,20	0,40	Ver APÉNDICE B
Cu	0,29	1,02	2,50	Ver APÉNDICE C
Mn	0,066	0,23	0,40	Ver APÉNDICE D
Pb	0,53	1,88	5,00	Ver APÉNDICE E
Zn	2,03	7,19	5,00	Ver APÉNDICE F

Fuente: Autor

7.3. Resultados y discusión de validación del método

Las pruebas de la validación fueron realizadas por dos analistas, en días diferentes; cada analista preparó 5 réplicas del set de muestras presentado en la Tabla 28, luego realizó pretratamiento con FC:13.3 y lectura, para un total de 10 réplicas por muestra. Las concentraciones de Cd, Co, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb y Zn en los extractos se determinaron por ICP-OES y las concentraciones reales fueron obtenidas, según las fórmulas establecidas en la sección de Cálculos. Los resultados obtenidos, fueron analizados estadísticamente empleando estadística descriptiva con la herramienta complementaria del software Excel para estadística paramétrica a partir de la prueba T para rechazo de datos anómalos con un 95 % de confianza, la precisión fue evaluada en términos de SD y % RSD, mientras que la veracidad como % Recuperación.

7.3.1. Cadmio

Los resultados de Cd obtenidos, fueron analizados estadísticamente (ver APÉNDICE G); se realizó la prueba T con un 95 % de confianza y fue necesario el rechazo de un dato para el blanco fortificado medio y la muestra real marina 13180 con adicionado medio. En la **Tabla 31** se encuentra un resumen detallado de los resultados

Tabla 31. Resumen estadístico de resultados de cadmio

Muestra	Replicas (n)	Adicionado (µg/L)	Promedio ± SD (µg/L)	% Recuperación ± RSD
Blanco	10		nd ⁱ	
BF.b ^a	10	1,00	0,87 ± 0,02	87,0 ± 2
BF.m ^b	9	10,0	8,33 ± 0,12	83,3 ± 1
BF.a ^c	10	20,0	16,5 ± 0,4	82,5 ± 2
MRm (13180) ^d	10		nd	
MRm +Ab ^e	10	1,00	0,85 ± 0,02	84,5 ± 3
MRm +Am ^f	9	10,0	8,30 ± 0,19	82,9 ± 2
MRm +Aa ^g	10	20,0	16,2 ± 0,6	81,2 ± 4
MI (3326-17A) ^h	10	675	605 ± 20	89,6 ± 3

^aBlanco fortificado bajo. ^bBlanco fortificado Medio. ^cBlanco fortificado Alto. ^dMuestra Real Marina 13180.

^eMuestra Real Marina con adicionado bajo. ^fMuestra Real Marina con adicionado medio. ^gMuestra Real Marina con adicionado alto. ^hMuestra interlaboratorio (SIGMA ALDRICH – RTC de metales traza disueltos, lote: LRAB5578). ⁱno detectado. Fuente: Autor

En la tabla **Tabla 31** se observan porcentajes de recuperación similares, en blancos fortificados y adicionados en muestra de mar (entre 81.2 y 89.6) %. Estos cumplen con el criterio de aceptación (60 – 100) % confirmando los valores obtenidos en la fase 1. Por otra parte, en la muestra interlaboratorio reportó una concentración de 605 ± 20 µg Cd/L y se encuentra dentro del rango de aceptación certificado (580 -771) µg Cd/L. Las RSD calculadas con respecto a los adicionados fueron ≤ 4 %.

7.3.2. Cobalto

Los resultados de Co obtenidos, fueron analizados estadísticamente (ver APÉNDICE H); se realizó la prueba T con un 95 % de confianza y fue necesario el rechazo de un dato para la muestra real marina 13180 con adicionado alto. En la **Tabla 32** se contempla un resumen detallado de los resultados.

Tabla 32. Resumen estadístico de resultados de cobalto

Muestra	Replicas (n)	Adicionado ($\mu\text{g/L}$)	Promedio \pm SD ($\mu\text{g/L}$)	% Recuperación \pm RSD
Blanco	10		nd ⁱ	
BF.b ^a	10	1,00	0,84 \pm 0,03	84,5 \pm 3
BF.m ^b	10	10,0	8,11 \pm 0,22	81,1 \pm 2
BF.a ^c	10	20,0	15,9 \pm 0,4	79,4 \pm 2
MRm (13180) ^d	10		nd	
MRm +Ab ^e	10	1,00	0,75 \pm 0,03	74,9 \pm 3
MRm +Am ^f	10	10,0	7,35 \pm 0,51	73,7 \pm 5
MRm +Aa ^g	9	20,0	14,6 \pm 0,4	73,0 \pm 2
MI (3326-17A) ^h	10	339	297 \pm 9	87,6 \pm 3

^aBlanco fortificado bajo. ^bBlanco fortificado Medio. ^cBlanco fortificado Alto. ^dMuestra Real Marina 13180. ^eMuestra Real Marina con adicionado bajo. ^fMuestra Real Marina con adicionado medio. ^gMuestra Real Marina con adicionado alto. ^h Muestra interlaboratorio (SIGMA ALDRICH – RTC de metales traza disueltos, lote: LRAB5578). ⁱno detectado. Fuente: Autor

En la tabla **Tabla 32** se evidencia que el grupo de blancos fortificados presentó mayores porcentajes de recuperación (entre 79.4 y 84.5) %, que el grupo de adicionados en muestra de mar (entre 73.0 y 74.9) %, siendo estos más bajos que los obtenidos en la fase 1. Sin embargo, todos cumplen con el criterio de aceptación (60 – 100) %. Por otra parte, en la muestra interlaboratorio se reportó una concentración de 297 \pm 9 μg Co/L y se encuentra dentro del rango de aceptación certificado (297 - 380) μg Co/L. Las RSD calculadas con respecto a los adicionados fueron \leq 5 %.

7.3.3. Cobre

Los resultados de Cu obtenidos, fueron analizados estadísticamente (ver APÉNDICE I); se realizó la prueba T con un 95 % de confianza y fue necesario el rechazo de un dato para la muestra interlaboratorio 3326-17. En la **Tabla 33** se presenta un resumen detallado de los resultados.

Tabla 33. *Resumen estadístico de resultados de cobre*

Muestra	Replicas (n)	Adicionado (µg/L)	Promedio ± SD (µg/L)	% Recuperación ± RSD
Blanco	10		nd ⁱ	
BF.b ^a	10	5,00	4,96 ± 0,06	99,2 ± 1
BF.m ^b	10	30,0	28,8 ± 1,6	96,2 ± 5
BF.a ^c	10	60,0	57,1 ± 3,1	95,1 ± 5
MRm (13180) ^d	10		nd	
MRm +Ab ^e	10	5,00	4,43 ± 0,06	88,6 ± 1
MRm +Am ^f	10	30,0	26,7 ± 1,4	88,2 ± 5
MRm +Aa ^g	10	60,0	56,7 ± 1,0	94,6 ± 2
MI (3326-17A) ^h	9	484	456 ± 12	94,1 ± 3

^aBlanco fortificado bajo. ^bBlanco fortificado Medio. ^cBlanco fortificado Alto. ^dMuestra Real Marina 13180.

^eMuestra Real Marina con adicionado bajo. ^fMuestra Real Marina con adicionado medio. ^gMuestra Real Marina con adicionado alto. ^hMuestra interlaboratorio (SIGMA ALDRICH – RTC de metales traza disueltos, lote: LRAB5578). ⁱno detectado. Fuente: Autor

En la **Tabla 33** se observan porcentajes de recuperación similares, en blancos fortificados y adicionados en muestra de mar entre (88.2 y 99.2) %. Estos cumplen con el criterio de aceptación (60 – 100) % confirmando los valores obtenidos en la fase 1. Por otra parte, en la muestra interlaboratorio reportó una concentración de 456 ± 12 µg Cu/L y se encuentra dentro del rango de aceptación certificado (438 - 531) µg Cu/L. Las RSD calculadas con respecto a los adicionados fueron ≤ 5 %.

7.3.4. Manganeso

Los resultados de Mn obtenidos, fueron analizados estadísticamente (ver APÉNDICE J); se realizó la prueba T con un 95 % de confianza y fue necesario el rechazo de un dato para la muestra real marina 13180 con adicionado alto. En la **Tabla 34** se contempla un resumen detallado de los resultados.

Tabla 34. Resumen estadístico de resultados de manganeso

Muestra	Replicas (n)	Adicionado (µg/L)	Promedio ± SD (µg/L)	% Recuperación ± RSD
Blanco	10		nd ⁱ	
BF.b ^a	10	1,00	0,95 ± 0,04	94,8 ± 4
BF.m ^b	10	10,0	8,04 ± 0,22	80,4 ± 2
BF.a ^c	10	20,0	15,0 ± 0,3	74,8 ± 1
MRm (13180) ^d	10		0,52 ± 0,02	
MRm +Ab ^e	10	1,00	1,61 ± 0,07	109 ± 7
MRm +Am ^f	10	10,0	6,93 ± 0,42	64,2 ± 4
MRm +Aa ^g	9	20,0	12,6 ± 0,5	60,4 ± 2
MI (3326-17A) ^h	10	426	386 ± 6	90,6 ± 2

^aBlanco fortificado bajo. ^bBlanco fortificado Medio. ^cBlanco fortificado Alto. ^dMuestra Real Marina 13180.

^eMuestra Real Marina con adicionado bajo. ^fMuestra Real Marina con adicionado medio. ^gMuestra Real Marina con adicionado alto. ^h Muestra interlaboratorio (SIGMA ALDRICH – RTC de metales traza disueltos, lote: LRAB5578). ⁱno detectado. Fuente: Autor

En la tabla **Tabla 34** se observa que los porcentajes de recuperación son inversamente proporcionales a la concentraciones adicionadas, además se alcanzaron mayores recuperaciones (80.4 y 74.8) % en blancos fortificados con adicionados medio (10.0 µg/L) y alto (20.0 µg/L), que en adicionados en muestra de mar (64.2 y 60.4) % para las mismas concentraciones respectivamente. Por otra parte, en la muestra interlaboratorio reportó una concentración de 386 ± 6 µg Mn/L y se encuentra dentro del rango de aceptación certificado (333 - 518) µg Mn/L. Las RSD calculadas con respecto a los adicionados fueron ≤ 7 %.

7.3.5. Plomo

Los resultados de Pb obtenidos, fueron analizados estadísticamente (ver APÉNDICE K); se realizó la prueba T con un 95 % de confianza y no fue necesario el rechazo de ningún dato. En la

Tabla 35 se presenta un resumen detallado de los resultados.

Tabla 35. *Resumen estadístico de resultados de plomo*

Muestra	Replicas (n)	Adicionado (µg/L)	Promedio ± SD (µg/L)	% Recuperación ± RSD
Blanco	10		nd ⁱ	
BF.b ^a	10	10,0	7,52 ± 0,13	75,2 ± 1
BF.m ^b	10	50,0	43,0 ± 1,7	86,0 ± 3
BF.a ^c	10	100	87,6 ± 2,4	87,6 ± 2
MRm (13180) ^d	10		nd	
MRm +Ab ^e	10	10,0	8,30 ± 0,22	83,0 ± 2
MRm +Am ^f	10	50,0	41,2 ± 2,1	82,5 ± 4
MRm +Aa ^g	10	100	86,2 ± 2,7	86,2 ± 3
MI (3326-17A) ^h	10	1000	945 ± 15	94,5 ± 1

^aBlanco fortificado bajo. ^bBlanco fortificado Medio. ^cBlanco fortificado Alto. ^dMuestra Real Marina 13180.

^eMuestra Real Marina con adiciónado bajo. ^fMuestra Real Marina con adiciónado medio. ^gMuestra Real Marina con adiciónado alto. ^h Muestra interlaboratorio (SIGMA ALDRICH – RTC de metales traza disueltos, lote: LRAB5578). ⁱno detectado. Fuente: Autor

En la **Tabla 35** se observan porcentajes de recuperación similares, en blancos fortificados y adicionados en muestra de mar, entre (82.5 y 87.6) % a excepción del blanco fortificado bajo con 75.2 %. Estos cumplen con el criterio de aceptación (60 – 100) % confirmando los valores obtenidos en la fase 1. Por otra parte, en la muestra interlaboratorio reportó una concentración de 945 ± 15 µg Pb/L y se encuentra dentro del rango de aceptación certificado (539 - 1460) µg Pb/L. Las RSD calculadas con respecto a los adicionados fueron ≤ 4 %.

7.3.6. Zinc

Los resultados de Zn obtenidos, fueron analizados estadísticamente (ver APÉNDICE L); se realizó la prueba T con un 95 % de confianza y fue necesario el rechazo de un dato en el blanco, dos en el blanco fortificado bajo y uno la muestra real marina con adicionado bajo. En la **Tabla 36** se presenta un resumen detallado de los resultados.

Tabla 36. Resumen estadístico de resultados de zinc

Muestra	Replicas (n)	Adicionado (µg/L)	Promedio ± SD (µg/L)	% Recuperación ± RSD
Blanco	9		3,95 ± 0,93	
BF.b ^a	8	10,0	12,9 ± 1,1	89,7 ± 11
BF.m ^b	10	50,0	49,7 ± 3,0	91,5 ± 6
BF.a ^c	10	100	95,9 ± 6,8	91,9 ± 7
MRm (13180) ^d	10		5,83 ± 0,47	
MRm +Ab ^e	9	10,0	14,5 ± 0,2	86,7 ± 2
MRm +Am ^f	10	50,0	52,9 ± 4,9	94,1 ± 10
MRm +Aa ^g	10	100	97,3 ± 4,7	91,4 ± 4
MI (3326-17A) ^h	10	888	972 ± 23	109 ± 3

^aBlanco fortificado bajo. ^bBlanco fortificado Medio. ^cBlanco fortificado Alto. ^dMuestra Real Marina 13180.

^eMuestra Real Marina con adicionado bajo. ^fMuestra Real Marina con adicionado medio. ^gMuestra Real Marina con adicionado alto. ^h Muestra interlaboratorio (SIGMA ALDRICH – RTC de metales traza disueltos, lote: LRAB5578). ⁱno detectado. Fuente: Autor

En la tabla **Tabla 36** se evidencia que se encontró una concentración de 3.95 µg Zn/L en el blanco, que no se logró remover en la limpieza del buffer, por lo tanto, fue restada de todas las muestras para calcular los porcentajes de recuperación, cuyos valores fueron similares, en blancos fortificados y adicionados en muestra de mar entre (86.7 y 94.1) %. Por otra parte, en la muestra interlaboratorio reportó una concentración de 972 ± 23 µg Pb/L y se encuentra dentro del rango de aceptación certificado (677 - 1100) µg Pb/L. Las RSD calculadas con respecto a los adicionados fueron ≤ 11 %.

7.3.7. Veracidad

En la **Tabla 37**, se exponen los resultados de veracidad del método, obtenidos en la validación y evaluados en términos de porcentaje de recuperación.

Tabla 37. Resultados de veracidad

Metal	% Recuperación BF ¹	% Recuperación MRm + AD ²	Muestra Interlaboratorio ³			
			Valor teórico ⁴ µg/L	Rango aceptable ⁴ µg/L	Valor Real ⁵ µg/L	%Recuperación
Cd	82,5 - 87,0	81,2 - 84,5	675	580 - 771	605	90
Co	81,2 - 84,5	73,0 - 74,9	339	297 - 380	297	88
Cu	95,1 - 99,2	88,2 - 94,4	484	438 - 531	456	94
Mn	74,8 - 94,8	63,0 - 109	426	333 - 518	386	91
Pb	75,2 - 87,6	82,5 - 86,2	1000	539 - 1460	945	95
Zn	89,7 - 91,9	82,8 - 94,1	888	677 - 1100	972	109

¹Blancos fortificados. ²Muestra real marina con adicionados. ³Muestra certificada SIGMA - ALDRICH lote: LRAB5578. ⁴concentración asignada µg/L (certificado). ⁵Concentración obtenida en la validación µg/L.

Fuente: Autor

En la **Tabla 37** se observa que blancos fortificados y adicionados en muestra de mar con Cd, Co, Cu, Mn, Pb y Zn cumplen con el criterio de aceptación de (60 a 110) % de recuperación, establecido como figura de mérito (Ver **Tabla 24**), según lo dispuesto en el MN-LABCAM-2 “Manual de Calidad Analítica 2” (INVEMAR, 2018b). Los valores de metales disueltos obtenidos en la muestra Interlaboratorio, se encuentran dentro del rango aceptable, señalado en el certificado, lo cual es evidencia de la confiabilidad del método.

7.3.8. Robustez

Se realizaron pruebas de significancia de contraste F y prueba t para dos colas, con el software Excel, a partir de las concentraciones de los metales objetivo en rango bajo, medio y alto, obtenidas por dos analistas. Dichos registros fueron conseguidos en días diferentes y enmarcados por las Condiciones básicas para extracciones y lecturas.

7.3.8.1. *Prueba F de Snedecor- Fisher:* Esta prueba se aplicó suponiendo una hipótesis nula de que no existen diferencias significativas entre los datos registrados por dos analistas de un blanco fortificado y una muestra de mar con adicionados conocidos de metales disueltos, obtenidos durante la validación para comprobar si ambos son igual de precisos.

Tabla 38. Prueba F para Cd disuelto en blancos fortificados entre dos analistas

Réplica	Blancos fortificados					
	BF.b (1,00 µg/L)		BF.m (10,0 µg/L)		BF.a (20,0 µg/L)	
	analista 1	analista 2	analista 1	analista 2	analista 1	analista 2
1	0,88	0,86	8,10	8,40	16,4	17,0
2	0,90	0,86	8,25	8,40	16,4	16,7
3	0,89	0,88	8,25	8,40	16,3	16,3
4	0,89	0,86	8,33	8,48	16,1	17,3
5	0,86	0,84	8,40	8,78	15,9	16,7
Valor teórico	1,00	1,00	10,0	10,0	20,0	20,0
Promedio	0,90	0,88	8,55	8,49	16,9	17,3
Desviación estándar (s)	0,02	0,01	0,11	0,16	0,21	0,36
Desviación estándar (s) ²	0,00032	0,00018	0,01238	0,027	0,043	0,13
Valor F obtenido	1,78		2,19		3,03	
Valor F tabulado	9,60					
RSD	1,98	1,52	1,30	1,94	1,24	2,09
% Recuperación	90,3	88,0	85,5	84,9	84,2	86,5
El valor F obtenido es < al valor F tabulado, por lo tanto, no existen diferencias significativas entre los datos registrados por dos analistas						

Tabla 39. Prueba F para Cd disuelto en muestra con adicionados entre dos analistas

Réplica	Muestra real marina (MRm) 13180					
	MRm + (1,00 µg/L)		MRm + (10,0 µg/L)		MRm (20,0 µg/L)	
	analista 1	analista 2	analista 1	analista 2	analista 1	analista 2
1	0,86	0,83	8,86	8,25	16,2	16,5
2	0,87	0,84	8,10	8,25	17,5	16,4
3	0,84	0,86	8,18	8,40	15,8	16,7
4	0,89	0,80	8,18	8,48	16,1	15,2
5	0,84	0,83	8,18	8,70	15,8	16,3
Valor teórico	1,00	1,00	10,00	10,00	20,0	20,0
Promedio	0,86	0,83	8,16	8,34	16,3	16,2
Desviación estándar (s)	0,02	0,02	0,04	0,11	0,70	0,56
Desviación estándar (s) ²	0,00038	0,00048	0,00141	0,013	0,487	0,32
Valor F obtenido	1,25		9,00		1,53	

Tabla 42. Prueba F para Cu disuelto en blancos fortificados, entre dos analistas

Réplica	Blancos fortificados					
	BF.b (5,00 µg/L)		BF.m (30,0 µg/L)		BF.a (60,0 µg/L)	
	analista 1	analista 2	analista 1	analista 2	analista 1	analista 2
1	4,86	4,85	27,8	31,73	56,0	58,8
2		5,03	30,0	27,45	55,1	61,9
3	4,97	4,98	29,3	27,53	55,9	62,6
4	4,94	5,00	30,5	27,38	54,8	56,3
5	4,98	4,99	29,3	27,53	53,3	56,3
Valor teórico	5,00	5,00	30,00	30,00	60,0	60,0
Promedio	4,96	4,97	29,48	28,32	55,83	59,3
Desviación estándar (s)	0,06	0,07	1,05	1,90	1,07	3,00
Desviación estándar (s) ²	0,00308	0,00446	1,09	3,627	1,135	8,98
Valor F obtenido	0,69		3,32		7,92	
Valor F tabulado	9,60					
RSD	1,12	1,34	3,55	6,72	1,91	5,06
% Recuperación	99,2	99,5	98,3	94,4	93,0	98,8

El valor F obtenido es < al valor F tabulado, por lo tanto, no existen diferencias significativas entre los datos registrados por dos analistas

Tabla 43. Prueba F para Cu disuelto en muestras con adicionados entre dos analistas

Réplica	Muestra real marina (MRm) 13180					
	MRm + (5,00 µg/L)		MRm + (30,0 µg/L)		MRm (60,0 µg/L)	
	analista 1	analista 2	analista 1	analista 2	analista 1	analista 2
1	4,51	4,47	26,9	27,2	57,6	57,5
2	4,37	4,50	27,2	27,2	56,2	56,7
3	4,40	4,44	27,7	24,0	56,6	56,0
4	4,47	4,37	24,2	27,6	58,9	55,2
5	4,33	4,43	27,8	27,7	56,2	56,7
Valor teórico	5,00	5,00	30,0	30,0	60,0	60,0
Promedio	4,41	4,44	26,7	26,7	57,1	56,4
Desviación estándar (s)	0,07	0,05	1,72	1,66	1,16	0,87
Desviación estándar (s) ²	0,0055	0,00227	2,97375	2,768	1,353	0,76
Valor F obtenido	2,41		1,07		1,79	
Valor F tabulado	9,60					
RSD	1,68	1,07	6,45	6,23	2,04	1,54
% Recuperación	88,3	88,9	89,2	89,1	95,1	94,1

El valor F obtenido es < al valor F tabulado, por lo tanto, no existen diferencias significativas entre los datos registrados por dos analistas

Tabla 44. Prueba F para Mn disuelto en blancos fortificados, entre dos analistas

Réplica	Blancos fortificados					
	BF.b (1,00 µg/L)		BF.m (10,0 µg/L)		BF.a (20,0 µg/L)	
	analista 1	analista 2	analista 1	analista 2	analista 1	analista 2
1	0,95	0,97	7,95	7,80	14,8	15,2
2	0,98	1,00	7,95	8,03	15,2	15,2
3	0,95	0,97	7,73	7,88	15,0	14,9
4	0,95	0,96	8,40	8,25	14,9	15,3
5	0,88	0,89	8,18	8,25	14,6	14,6

Réplica	Blancos fortificados					
	BF.b (1,00 µg/L)		BF.m (10,0 µg/L)		BF.a (20,0 µg/L)	
	analista 1	analista 2	analista 1	analista 2	analista 1	analista 2
Valor teórico	1,00	1,00	10,0	10,0	20,0	20,0
Promedio	0,95	0,96	8,37	8,04	15,73	15,86
Desviación estándar (s)	0,04	0,04	0,26	0,21	0,23	0,32
Desviación estándar (s) ²	0,0013	0,0015	0,066	0,043	0,052	0,10
Valor F obtenido	1,13		1,52		1,97	
Valor F tabulado	9,60					
RSD	3,85	4,03	3,07	2,59	1,45	2,02
% Recuperación	94,9	96,4	83,7	80,4	78,7	79,3
El valor F obtenido es < al valor F tabulado, por lo tanto, no existen diferencias significativas entre los datos registrados por dos analistas						

Tabla 45. Prueba F para Mn disuelto en muestras con adicionados entre dos analistas

Réplica	Muestra real marina (MRm) 13180 (0,52 µg/L)					
	MRm + (1,00 µg/L)		MRm + (10,0 µg/L)		MRm (20,0 µg/L)	
	analista 1	analista 2	analista 1	analista 2	analista 1	analista 2
1	1,68	1,61	6,64	6,08	13,1	12,7
2	1,59	1,73	7,58	6,51	11,7	12,8
3	1,52	1,61	7,09	7,01	12,2	12,8
4	1,58	1,60	7,04	7,15	12,5	13,1
5	1,52	1,62	7,28	6,97	12,6	11,7
Valor teórico	1,00	1,00	10,00	10,00	20,0	0,2
Promedio	1,58	1,63	7,12	6,74	12,4	12,6
Desviación estándar (s)	0,07	0,06	0,24	0,49	0,53	0,52
Desviación estándar (s) ²	0,0044	0,0031	0,060	0,23	0,28	0,27
Valor F obtenido	1,40		4,00		1,03	
Valor F tabulado	9,60					
RSD	4,21	3,43	3,43	7,24	4,27	4,15
% Recuperación	106	111	66,0	62,2	59,5	60,4
El valor F obtenido es < al valor F tabulado, por lo tanto, no existen diferencias significativas entre los datos registrados por dos analistas						

Tabla 46. Prueba F para Pb disuelto en blancos fortificados, entre dos analistas

Réplica	Blancos fortificados					
	BF.b (10,0 µg/L)		BF.m (50,0 µg/L)		BF.a (100 µg/L)	
	analista 1	analista 2	analista 1	analista 2	analista 1	analista 2
1	7,40	7,37	45,3	42,0	88,5	90,8
2	7,80	7,58	42,9	40,3	87,0	88,5
3	7,50	7,58	41,7	41,3	89,3	87,0
4	7,40	7,65	45,3	42,5	85,5	90,8
5	7,46	7,50	44,3	44,3	84,8	84,0
Valor teórico	10,0	10,0	50,0	50,0	100	100
Promedio	7,93	7,94	44,9	42,1	89,2	90,2
Desviación estándar (s)	0,17	0,11	1,57	1,49	1,91	2,84
Desviación estándar (s) ²	0,028	0,012	2,47	2,21	3,66	8,04
Valor F obtenido	2,41		1,12		2,20	
Valor F tabulado	9,60					

Tabla 49. Prueba F para Zn disuelto en muestras con adicionados entre dos analistas

Réplica	Muestra real marina (MRm) 13180					
	MRm + (10,0 µg/L)		MRm + (50,0 µg/L)		MRm (100 µg/L)	
	analista 1	analista 2	analista 1	analista 2	analista 1	analista 2
1	14,2	14,4	57,8	41,3	101	101
2	14,4	14,5	56,9	41,9	98,3	94,5
3	14,5	14,5	57,9	37,4	92,3	96,8
4	14,6	14,7	59,2	37,7	96,0	94,5
5	14,8	15,2	54,7	43,1	92,3	106
Valor teórico	10,0	10,0	50,0	50,0	100	100
Promedio	14,5	14,6	57,3	40,3	96,0	98,6
Desviación estándar (s)	0,23	0,31	1,90	2,35	3,90	4,88
Desviación estándar (s) ²	0,052	0,094	3,63	5,54	15,2	23,8
Valor F obtenido	1,82		1,53		1,57	
Valor F tabulado	9,60					
RSD	1,57	2,09	3,32	5,84	4,06	4,95
% Recuperación	145	146	115	80,6	96,0	98,6

El valor F obtenido es < al valor F tabulado, por lo tanto, no existen diferencias significativas entre los datos registrados por dos analistas

Después de realizar pruebas F (tabla 38 hasta la 49), en todos los casos se comprueba la hipótesis nula, por lo tanto, no existen diferencias significativas de precisión entre los datos registrados por dos analistas en blancos fortificados y muestra de mar con adicionados conocidos de metales disueltos. De esta manera las variaciones inherentes al desarrollo del método en la reproducibilidad no intervienen factores distintos a los encontrados en el estudio de repetitividad. Por lo tanto, son confiables bajo las condiciones de validación (Operaciones de análisis).

7.3.8.2. Prueba t para dos muestras suponiendo medias iguales: Luego de comprobar que no hay diferencias significativas entre las varianzas (pruebas F) se aplicó la prueba t, suponiendo una hipótesis nula de que las medias muestrales iguales. Si $t_{\text{experimental}} < t_{\text{crítico}}$, se acepta la hipótesis nula, es decir, las dos medias de los datos registrados por dos analistas, de blancos fortificados con adicionados conocidos de metales disueltos, obtenidos durante la validación son estadísticamente iguales.

Tabla 50. Prueba *t* para Cd disuelto entre dos analistas

Blanco fortificado (1,00 µg/L)		
	Analista 1	Analista 2
Media	0,88	0,86
Varianza	0,00032	0,00018
Observaciones	5	5
Varianza agrupada	0,00025	
Diferencia hipotética de las medias	0,00	
Grados de libertad	8	
Estadístico t	2,70	
P(T<=t) una cola	0,014	
Valor crítico de t (una cola)	1,86	
P(T<=t) dos colas	0,027	
Valor crítico de t (dos colas)	2,31	
Se acepta la hipótesis nula suponiendo desviaciones iguales, dando como resultado una variación de 0,027 entre dos analistas.		

Tabla 51. Prueba *t* para Co disuelto entre dos analistas

Blanco fortificado (1,00 µg/L)		
	Analista 1	Analista 2
Media	0,84	0,85
Varianza	0,00066	0,00055
Observaciones	5	5
Varianza agrupada	0,00060	
Diferencia hipotética de las medias	0,00	
Grados de libertad	8,00	
Estadístico t	-1,16	
P(T<=t) una cola	0,14	
Valor crítico de t (una cola)	1,86	
P(T<=t) dos colas	0,28	
Valor crítico de t (dos colas)	2,31	
Se acepta la hipótesis nula suponiendo desviaciones iguales, dando como resultado una variación de 0,28 entre dos analistas.		

Tabla 52. Prueba *t* para Cu disuelto entre dos analistas

Blanco fortificado (5,00 µg/L)		
	Analista 1	Analista 2
Media	4,95	4,97
Varianza	0,0031	0,0045
Observaciones	5	5
Varianza agrupada	0,0038	
Diferencia hipotética de las medias	0,00	
Grados de libertad	8,00	

Blanco fortificado (5,00 µg/L)	
Estadístico t	-0,42
P(T<=t) una cola	0,34
Valor crítico de t (una cola)	1,86
P(T<=t) dos colas	0,68
Valor crítico de t (dos colas)	2,31
Se acepta la hipótesis nula suponiendo desviaciones iguales, dando como resultado una variación de 0,68 entre dos analistas.	

Tabla 53. Prueba t para Mn disuelto entre dos analistas

Blanco fortificado (1,00 µg/L)		
	Analista 1	Analista 2
Media	0,94	0,96
Varianza	0,0013	0,0015
Observaciones	5	5
Varianza agrupada	0,0014	
Diferencia hipotética de las medias	0,00	
Grados de libertad	8,00	
Estadístico t	-0,76	
P(T<=t) una cola	0,24	
Valor crítico de t (una cola)	1,86	
P(T<=t) dos colas	0,47	
Valor crítico de t (dos colas)	2,31	
Se acepta la hipótesis nula suponiendo desviaciones iguales, dando como resultado una variación de 0,68 entre dos analistas.		

Tabla 54. Prueba t para Pb disuelto entre dos analistas

Blanco fortificado (10,0 µg/L)		
	Analista 1	Analista 2
Media	7,51	7,53
Varianza	0,028	0,012
Observaciones	5	5
Varianza agrupada	0,020	
Diferencia hipotética de las medias	0,00	
Grados de libertad	8,00	
Estadístico t	-0,25	
P(T<=t) una cola	0,40	
Valor crítico de t (una cola)	1,86	
P(T<=t) dos colas	0,81	
Valor crítico de t (dos colas)	2,31	
Se acepta la hipótesis nula suponiendo desviaciones iguales, dando como resultado una variación de 0,68 entre dos analistas.		

Tabla 55. Prueba t para Zn disuelto entre dos analistas

Blanco fortificado (50,0 µg/L)		
	Analista 1	Analista 2
Media	50,3	49,1
Varianza	9,67	10,3
Observaciones	5	5
Varianza agrupada		9,97
Diferencia hipotética de las medias		0,00
Grados de libertad		8
Estadístico t		0,59
P(T<=t) una cola		0,29
Valor crítico de t (una cola)		1,86
P(T<=t) dos colas		0,57
Valor crítico de t (dos colas)		2,31
Se acepta la hipótesis nula suponiendo desviaciones iguales. Dando como resultado una variación de 0,57 entre dos analistas.		

Se evidencia que en los resultados de las pruebas t (tabla 50 a 55) para dos colas al 95% de confianza, se comprobó la hipótesis nula, es decir, las dos medias muestrales comparadas son iguales estadísticamente. De esta manera se corrobora que los resultados obtenidos por los dos analistas son comparables y reproducibles, bajo las condiciones de validación (Operaciones de análisis).

7.3.9. Precisión

Se evaluó repetibilidad y repetibilidad intermedia del método de extracción y concentración de metales disueltos en blancos fortificados y muestras de mar con adicionados conocidos realizados por dos analistas.

7.3.9.1. Repetibilidad. Bajo condiciones de repetibilidad, se evaluó la precisión en el set de muestras trabajadas en la validación (*Tabla 28*), por analista, en términos de % RSD. Los resultados se presentan en la *Tabla 56*.

Tabla 56. *Repetibilidad por analista*

Metal	Rangos % RSD	
	Analista 1	Analista 2
Cd	0,46 - 4,29	1,52 - 3,48
Co	1,39 - 8,33	2,05 - 6,20
Cu	1,12 - 6,45	1,07 - 6,72
Mn	1,45 - 4,21	2,02 - 7,24
Ni	2,65 - 9,74	5,12 - 7,57
Zn	1,57 - 9,46	2,09 - 8,05

Fuente: Autor

La precisión en condiciones de repetibilidad por analista cumple con el criterio de aceptación de $\%RSD \leq 15\%$ establecido en la **Tabla 24** según el LABCAM (INVEMAR, 2018b).

7.3.9.2. *Precisión intermedia.* Se evaluó la precisión intermedia en términos de % RSD, a partir de los resultados obtenidos por dos analistas, en días diferentes. Los resultados se presentan en la **Tabla 57**.

Tabla 57. *Repetibilidad entre dos analistas*

Metal	Rango % RSD
	Analistas 1 y 2
Cd	1,38 - 3,69
Co	2,47 - 6,98
Cu	1,18 - 5,41
Mn	2,74 - 4,06
Pb	1,77 - 5,08
Zn	4,50 - 9,28

Fuente: Autor

En la Tabla 57, se evidencia que la precisión, en condiciones de precisión intermedia, cumple con el criterio de aceptación de $\%RSD \leq 30 \%$ establecido en la **Tabla 24**, según el LABCAM (INVEMAR, 2018b).

7.3.10. Selectividad

La selectividad de la metodología está limitada principalmente por la extracción con la resina *NC PA-1* y fue determinada por (Sohrin, et al., 2008) quienes reportaron eficiencia de la resina en nueve metales (Al, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Cd y Pb). Con el fin de confirmar dicha información y evaluar adicionalmente la selectividad para Ag, Ba, Cr y V, fueron desarrolladas pruebas recuperación en blancos fortificados y adicionados en muestras de mar, durante la etapa de implementación de la metodología (fase 1). Finalmente se determinó que, bajo las condiciones experimentales trabajadas, el método es selectivo para Cd, Co, Cu, Mn, Pb y Zn a $pH 6.00 \pm 0.05$.

7.3.11. Rango del método

En la Tabla 58, se registran los valores obtenidos durante la validación del método, los cuales representan los rangos establecidos para los metales en estudio.

Tabla 58. *Rangos del método para determinación en aguas de mar con la resina NC PA-1*

Metal	Rango lineal $\mu g/L^1$	Rango de trabajo $\mu g/L$ FC:13,3 ²
Cd	3,00 – 300	0,40 - 20,0
Co	3,00 – 300	0,40- 20,0
Cu	20,0 – 300	2,50 - 60,0
Mn	3,00 – 300	0,40 - 20,0
Pb	30,0 – 500	5,00 – 100
Zn	30,0 - 500	5,00 – 100

¹Rango definido en la curva de calibración. ²Rango establecido experimentalmente a partir del LCM y adicionado alto en agua de mar, preconcentrados con la resina (NC PA-1). Fuente: Autor.

7.3.12. Estimación de la incertidumbre del método

La estimación de la incertidumbre se realizó a partir de la metodología recomendada por (EURACHEM/CITAC, 2012) primera edición en español, la cual fue basada en la contribución de las fuentes individuales de incertidumbre, previamente identificadas a partir de un diagrama causa-efecto (Ver APÉNDICE M). Se utilizaron resultados experimentales, obtenidos en la validación del método de forma independiente para cada mensurando (Cd, Co, Cu, Mn, Pb y Zn).

Las fuentes individuales de incertidumbre determinadas fueron, la concentración obtenida a partir de la curva de calibración, el factor de concentración y la reproducibilidad. En la **Tabla 59** se encuentran los valores de incertidumbre expandida, estimados para cada mensurando en rango bajo, medio y alto.

Tabla 59. Incertidumbre expandida de Cd, Co, Cu, Mn, Pb y Zn

Mensurando	Rango	Concentración µg/L	Incertidumbre expandida µ ¹
Cd	bajo	0,40 - 1,00	0,12
	medio	1,01 - 10,0	0,055
	alto	10,1 - 20,0	0,079
Co	bajo	0,40 - 1,00	0,13
	medio	1,01 - 10,0	0,14
	alto	10,1 - 20,0	0,060
Cu	bajo	2,50 - 5,00	0,10
	medio	5,01 - 30,0	0,11
	alto	30,1 - 60,0	0,080
Mn	bajo	0,40 - 1,00	0,10
	medio	1,01 - 10,0	0,13

Mensurando	Rango	Concentración µg/L	Incertidumbre expandida µ ¹
Pb	alto	10,1 - 20,0	0,076
	bajo	5,00 - 10,0	0,071
	medio	10,1 - 50,0	0,087
	alto	50,1 - 100	0,078
Zn	bajo	5,00 - 10,0	0,039
	medio	10,1 - 50,0	0,13
	alto	50,1 - 100	0,096

¹Al 95% de confianza y factor de cobertura 2. Fuente: Autor

El resultado final, se expresa de la siguiente forma: $C \pm U = C \pm C \cdot U$, donde C es la concentración del analito determinado experimentalmente y U es la incertidumbre expandida con factor de cobertura 2 para un nivel de confianza de 95 %. Por ejemplo, para una concentración de 15.0 µg Cd/L su incertidumbre sería $15.0 \cdot 0.079 = 1.2$ y la expresión del resultado 15.0 ± 1.2 µg Cd/L.

7.4. Conclusiones

Se determinó que no existen diferencias significativas, entre los resultados obtenidos durante la validación, por dos analistas, en blancos fortificados y muestras marinas con adicionados conocidos de Cd, Co, Cu, Mn, Pb y Zn disueltos.

Los valores de precisión y veracidad alcanzados, en blancos fortificados y muestras marinas con adicionados conocidos de Cd, Co, Cu, Mn, Pb y Zn, durante el proceso de validación, se encuentran dentro de los criterios de aceptación establecidos por el LABCAM de $RSD < 15 \%$ y recuperación entre (60 - 110) %; junto al set de muestras analizado en la validación, se incluyó una muestra interlaboratorio certificada, que presentó resultados satisfactorios, para todos los metales disueltos validados (**Tabla**

37). En este orden de ideas, se demuestra un nivel aceptable de confiabilidad, para la aplicación de la metodología validada en el LABCAM.

7.5. Declaración de aptitud del método

El método de preconcentración manual, de muestras de agua de mar, por medio de la resina *NC PA-1* implementado y validado, es confiable, para realizar la determinación de Cd, Co, Cu, Mn, Pb y Zn disueltos en los extractos obtenidos, por ICP-OES, según SM 3030 B y SM 3120 B, bajo las condiciones ambientales y operacionales del LABCAM – INVEMAR, con una precisión en términos de RSD < 15 %, y una veracidad en términos de recuperación entre (60-110) %.

8. FASE 3 – DETERMINACIÓN Y EVALUACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE Cd, Co, Cu, Mn, Pb Y Zn EN LA BAHÍA DE SANTA MARTA A PARTIR DE LA METODOLOGÍA IMPLEMENTADA Y VALIDADA CON LA RESINA NC PA-1

En esta fase experimental se encuentra una descripción del muestreo realizado en la Bahía de Santa Marta y posterior análisis de Cd, Co, Cu, Mn, Pb y Zn disueltos por ICP-OES. Las muestras fueron planificadas, recolectadas, preservadas, ingresadas y analizadas en el LABCAM siguiendo los procedimientos establecidos y a partir de la metodología implementada y validada en el presente trabajo. La evaluación de la calidad del agua de la bahía de Santa Marta, se realizó por comparación de los resultados con las tablas de referencia para efectos agudos o crónicos sobre la biota marina (SQUIRTs) de la Administración Nacional de EUA para los Océanos y la Atmósfera (NOAA) (Buchman, 2008) y los criterios de calidad del agua recomendados por la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA, 2016).

8.1. Descripción metodológica fase 3

La evaluación de Cd, Co, Cu, Mn, Pb y Zn comprende la recolección de muestras en nueve puntos de la bahía de Santa Marta y posterior procesamiento de las muestras en el LABCAM, a partir de la metodología validada y finalmente una comparación de los resultados con valores de referencia internacionales (Buchman, 2008) y (EPA, 2016). Adicionalmente se incluyó una comparación con los resultados publicados por INVEMAR entre 2016 y 2020 en la Bahía de Santa Marta y con cinco zonas costeras internacionales donde se realizaron estudios similares realizados por Jafarabadi, Bakhtiyari et al. (2017) en Irán y por Achary et al. (2016); Jayaprakash et al. (2015); Padhi et al. (2013) y Jonathan et al. (2008) en la India.

8.1.1. Recolección de muestras

El muestreo superficial (< 40 cm por debajo de la superficie) se realizó en nueve puntos de la Bahía de Santa Marta, en los puntos donde la profundidad fue mayor a 3 metros, se recolectó muestra adicional a un 1 metro del fondo, empleando una botella Niskin. Todos los puntos fueron georreferenciados con GPS GARMIN y se realizaron análisis in situ de pH, temperatura, conductividad, salinidad, oxígeno disuelto, transparencia y profundidad (Ver APÉNDICE N). Las muestras fueron recepcionadas y filtradas a través de membranas de 0.2 μm , preservadas con 1 mL de ácido nítrico suprapur concentrado y almacenadas en cuarto frío a temperatura < 6 °C, hasta su análisis. En la **Figura 16**, se observa la distribución de los puntos de muestreo de agua en la Bahía de Santa Marta.

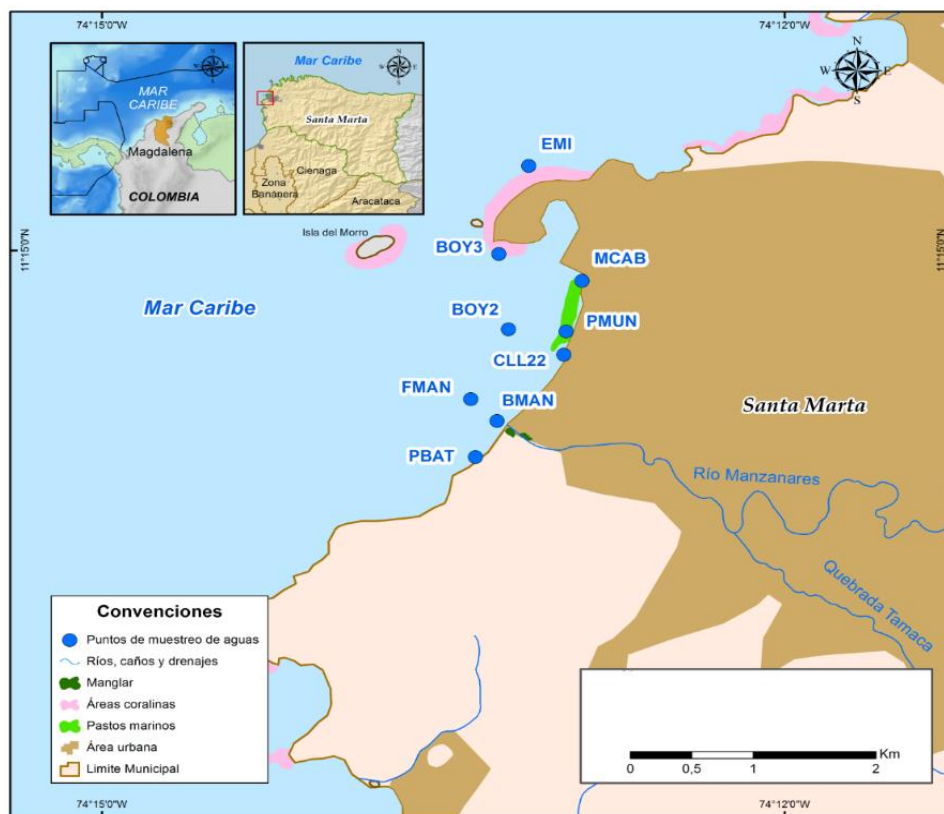


Figura 16. Distribución geográfica de los puntos de muestreo de agua recolectada en la bahía de Santa Marta, Magdalena. Fuente: INVEMAR-Coordinación GEZ (2019).

8.1.2. Procesamiento de muestras

Las muestras fueron concentradas 13.3 veces empleando la metodología validada con la resina *NC PA-1* y analizadas por triplicado. Las concentraciones de Cd, Co, Cu, Mn, Pb y Zn disueltos en los extractos obtenidos, fueron determinadas por ICP-OES y el resultado fue ajustado teniendo en cuenta el factor de concentración. En la **Tabla 60** se muestran las metodologías empleadas para los análisis de campo y laboratorio.

Tabla 60. Metodologías empleadas para análisis de aguas en campo y laboratorio

Parámetro	Métodos de Análisis
Salinidad	Medición electrométrica de la conductividad con electrodo acoplado a sonda, según Standard Methods 2520-B (APHA, et al., 2017).
Temperatura (°C)	Medición potenciométrica con sonda portátil, según Standard Methods 4500-H ⁺ B (APHA, et al., 2017).
pH	Medición electrométrica con termocupla acoplada a sonda portátil, según Standard Methods 4500-H ⁺ B (APHA, et al., 2017).
Oxígeno disuelto (mg/L)	Medición con electrodo de membrana, según Standard Methods 4500-O G (APHA, et al., 2017).
Metales disueltos: Cd, Co, Cu, Mn, Pb y Zn (µg/L)	Extracción con resina <i>NC PA-1</i> - HNO ₃ (validada) y cuantificación por Espectrometría de Emisión Atómica con Plasma Acoplado Inductivamente ICP-OES, según Standard Methods 3120 B

Fuente: Autor

8.2. Resultados y discusión

8.2.1. Muestras recolectadas

Todas las actividades de muestreo fueron realizadas entre las 08:00 y las 13:00 horas del día 10 de octubre de 2019, las muestras fueron refrigeradas en campo, en cavas con hielo hasta su recepción en el laboratorio. Durante el muestreo no llovió. Sin embargo, en los días anteriores se presentaron precipitaciones, por lo cual en el punto BMAN, se evidenció un contraste visual entre el agua proveniente del Río Manzanares y el agua de mar, debido a la alta turbiedad y los residuos sólidos ingresando a la playa desde el

afluente de agua dulce, tales como recipientes plásticos, bolsas con basura, troncos de árboles entre otros; adicionalmente, dicho afluente, afecta la salinidad en los puntos BMAN y PBAT (20.7 y 30.8) ‰ respectivamente, ya que los demás puntos presentaron valores entre (32.2 y 35.1) ‰. En total fueron tomadas 14 muestras (Ver **Tabla 61**), más los controles de calidad de muestreo blanco viajero, testigo y replica.

Tabla 61. *Identificación y coordenadas de muestras recolectadas en la Bahía de Santa Marta el día 10 de octubre de 2019.*

Identificación	Punto de muestreo	Latitud	Longitud
Playa Batallón - Superficie	PBAT	11°14'2.45"N	74°13'20.76"O
Playa Batallón - Superficie (Réplica)			
Boca Río Manzanares - Superficie	BMAN	11°14'15.05"N	74°13'20.42"O
Frente Río Manzanares - Superficie	FMAN	11°14'20.12"N	74°13'28.84"O
Frente Río Manzanares - Fondo			
Puente Calle 22 - Superficie	CLL22	11°14'31.09"N	74°12'59.73"O
Playa Municipal - Superficie	PMUN	11°14'40.74"N	74°12'59.26"O
Boya 2 - Superficie	BOY2	11°14'46.26"N	74°12'2.38"O
Boya 2 - Fondo			
Muelle de Cabotaje - Superficie	MCAB	11°14'52.94"N	74°12'54.66"O
Boya 3 - Superficie	BOY3	11°15'1.53"N	74°13'19.25"O
Boya 3 - Fondo			
Emisario - Superficie	EMI	11°15'18.65"N	74°13'19.37"O
Emisario - Fondo			

Fuente: Autor

8.2.2. Muestras procesadas

Para asegurar la calidad de los resultados, en el set de muestras analizadas (Ver **Tabla 62**) se incluyeron controles de calidad, en muestreo, procedimiento de preconcentración con la resina NC PA-1 y lectura en el ICP-OES.

Tabla 62. Resultados obtenidos en los controles de calidad analíticos y de muestreo, analizados junto al set de muestras de la Bahía de Santa Marta.

Muestra	Parámetro	Cd (µg/L)	Co (µg/L)	Cu (µg/L)	Mn (µg/L)	Pb (µg/L)	Zn (µg/L)
QC 1 ^a	Concentración teórica	3,00	3,00	20,0	3,00	30,0	30,0
	Resultado	2,71	3,02	19,7	2,70	31,6	29,7
	% Error	9,67	0,67	1,50	10,0	5,33	1,00
QC 2 ^a	Concentración teórica	20,0	20,0	100	20,0	300	300
	Resultado	19,6	20,2	102	20,0	305	300
	% Error	2,00	1,00	2,00	0,00	1,67	0,00
Blanco ^b	Promedio (n:3)	<0,40	<0,40	<2,50	<0,40	<5,00	<5,00
	Cumple	SI	SI	SI	SI	SI	SI
Estándar de Control ^c	Concentración esperada	10,0	10,0	20,0	10,0	10,0	20,0
	Promedio (n:3)	8,65	8,60	18,0	8,70	8,08	17,9
	SD	0,04	0,04	0,15	0,00	0,09	0,38
	RSD	0,50	0,50	0,83	0,00	1,07	2,09
	% Recuperación	86,5	86,0	90,0	87,0	80,8	89,5
	Cumple	SI	SI	SI	SI	SI	SI
12465 ^d	Concentración	<0,40	<0,40	<2,50	1,58	<5,00	<5,00
12465 ^d + Adicionado	Concentración adicionada	10,0	10,0	20,0	10,0	20,0	20,0
	Promedio (n:3)	8,45	7,90	18,6	8,13	16,7	16,9
	SD	0,04	0,04	0,16	0,04	0,23	0,26
	RSD	0,51	0,55	0,84	0,53	1,37	1,56
	% Recuperación	84,5	79,0	92,9	65,5	83,5	84,5
	Cumple	SI	SI	SI	SI	SI	SI
12469 ^e	Promedio (n:3)	<0,40	<0,40	<2,50	<0,40	<5,00	<5,00
12470 ^f	Promedio (n:3)	<0,40	<0,40	<2,50	<0,40	<5,00	<5,00

^aEstándar preparado en HNO₃ 0,5 N (sin preconcentración). ^bAgua desionizada preconcentrada FC:13,3.

^cBlanco fortificado preconcentrado FC:13,3. ^dMuestra de agua de mar proveniente de Boya 3 –

Superficie. ^eBlanco viajero. ^fTestigo de campo. Fuente: Autor

En la **Tabla 62**, se observa que los estándares QC 1 y QC 2 leídos sin preconcentración obtuvieron porcentajes de error ≤ 10 %, esto demuestra, que el ICP-OES se encontraba en óptimas condiciones de lectura. Las concentraciones de los seis metales disueltos del blanco viajero (12469) y testigo (12470), se encontraron por debajo de los límites de cuantificación del método. Se descarta contaminación cruzada durante todas las etapas del análisis incluido el muestreo; por otra parte, en el estándar de control se alcanzaron recuperaciones entre (80.8 a 90.0) % y en el adicionado en muestra de

mar, entre (65.5 a 92.6) % los cuales cumplen con los criterios de aceptación establecidos por el LABCAM (INVEMAR, 2018b).

En La **Tabla 63** presenta los resultados obtenidos en las muestras de la Bahía de Santa Marta.

Tabla 63. Resultados de metales disueltos en la Bahía de Santa Marta.

Punto	Identificación	Cd (µg/L)	Co (µg/L)	Cu (µg/L)	Mn (µg/L) ^a	Pb (µg/L)	Zn (µg/L)
PBAT	Playa Batallón – Superficie	<0,40	<0,40	<2,50	10,7 ± 0,80	<5,00	<5,00
BMAN	Boca Río Manzanares – Superficie	<0,40	<0,40	<2,50	8,53 ± 1,11	<5,00	<5,00
FMAN	Frente Río Manzanares – Superficie	<0,40	<0,40	<2,50	1,93 ± 0,25	<5,00	<5,00
	Frente Río Manzanares – Fondo	<0,40	<0,40	<2,50	1,99 ± 0,26	<5,00	<5,00
CLL22	Puente Calle 22 – Superficie	<0,40	<0,40	<2,50	3,83 ± 0,50	<5,00	<5,00
PMUN	Playa Municipal – Superficie	<0,40	<0,40	<2,50	2,19 ± 0,28	<5,00	<5,00
BOY2	Boya 2 – Superficie	<0,40	<0,40	<2,50	1,60 ± 0,20	<5,00	<5,00
	Boya 2 – Fondo	<0,40	<0,40	<2,50	1,30 ± 0,17	<5,00	<5,00
MCAB	Muelle de Cabotaje – Superficie	<0,40	<0,40	<2,50	3,99 ± 0,52	<5,00	<5,00
BOY3	Frente a Punta Betín – Superficie	<0,40	<0,40	<2,50	1,58 ± 0,20	<5,00	<5,00
	Frente a Punta Betín – Fondo	<0,40	<0,40	<2,50	1,21 ± 0,15	<5,00	<5,00
EMI	Emisario – Superficie	<0,40	<0,40	<2,50	2,67 ± 0,35	<5,00	<5,00
	Emisario – Fondo	<0,40	<0,40	<2,50	2,50 ± 0,33	<5,00	<5,00
	Blanco viajero	<0,40	<0,40	<2,50	<0,40	<5,00	<5,00
	Testigo	<0,40	<0,40	<2,50	<0,40	<5,00	<5,00
	Efectos crónicos en agua Marina	7,90 ^c	1,00 ^b	3,10 ^b	100 ^b	8,10 ^b	81,0 ^b
	Efectos agudos en agua Marina	33,0 ^c	nr ^d	4,80 ^b	nr	210 ^b	90,0 ^b

^aResultado con incertidumbre expandida al 95% de confianza y factor de cobertura 2. ^bValores límites referenciados por la Administración Nacional de EUA para los Océanos y la Atmósfera (NOAA)

(Buchman, 2008). ^c criterios de calidad del agua recomendados por la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA, 2016). ^dnr, no reporta. Fuente: Autor

Los resultados de Manganeso, presentaron RSD entre (0.22 y 6.77) % y fueron reportados con la incertidumbre estimada en la validación del método (Ver Tabla 59). En

los puntos BMAN, CLL22, PMUN y MCAB las concentraciones reportadas corresponden a muestras recolectadas en la superficie debido a que la profundidad fue menor a 3 metros, mientras que en los puntos restantes se reportaron concentraciones en superficie y fondo. Sin embargo, los resultados de Mn no presentan diferencias significativas entre la superficie y el fondo ya que se encuentran dentro de la incertidumbre calculada, por lo que en la evaluación se hizo referencia a los obtenidos en superficie para mantener las mismas condiciones en todos los puntos.

El Mn fue detectado en todos los puntos analizados, en el punto BMAN (8.53 ± 1.11) $\mu\text{g Mn/L}$, el cual es el punto de mezcla de la desembocadura del río Manzanares, seguido de PBAT donde se encontró el valor más alto (10.7 ± 0.8) $\mu\text{g Mn/L}$ que también es influenciado por el agua del río y la actividad turística; en los puntos MCAB y CLL22 aunque en menor concentración (3.99 ± 0.52 y 3.83 ± 0.50) $\mu\text{g Mn/L}$ respectivamente, estos puntos tienen la particularidad de que están cerca de la orilla y además, son afectados por escorrentías urbanas. En PMUN donde se realiza actividad turística se obtuvo un valor de 2.19 ± 0.28 $\mu\text{g Mn/L}$, en la zona EMI, la cual es influenciada por la descarga de las aguas residuales domésticas se detectó una concentración de 2.67 ± 0.35 ; por último, en los puntos BOY2, BOY3 y FMAN se reportaron los valores más bajos (1.60 ± 0.20 , 1.58 ± 0.20 y 1.93 ± 0.25) debido a que se encuentran al extremo marino y no son afectados por ninguna de las descargas mencionadas anteriormente. En un estudio similar realizado en el Golfo de Cariaco donde desemboca el río Manzanares (Venezuela), Martínez et al. (2006) afirman haber encontrado una concentración significativa de Mn en la zona de mezcla de la desembocadura del río, durante los periodos de lluvia, mientras que fue baja en otros puntos en el extremo marino. Lo cual es consistente con los resultados obtenidos en el presente estudio.

Por otra parte, las concentraciones de Cd, Co, Cu, Pb y Zn, se encontraron por debajo del Límite de Cuantificación del Método en todos los puntos. Ninguno de los valores de

los metales cuantificados, superó el valor de referencia para efectos crónicos en organismos marinos propuesto por la NOAA (Buchman, 2008) y los criterios de calidad del agua recomendados por la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA, 2016).

8.2.3. Comparación de metales disueltos en el área de estudio en años anteriores.

Se consultaron informes técnicos de diagnóstico y evaluación de la calidad de aguas marinas y costeras realizados por INVEMAR, publicados entre 2016 y 2020, durante las épocas secas y de lluvias, correspondientes al primer y segundo semestre de cada año, respectivamente. Estos resultados fueron obtenidos por el método de extracción con APDC-MIBK- HNO_3 1N y cuantificación por absorción atómica con llama (norma Standard Methods 3111-C). En la **Figura 17**, se encuentra una comparación de los resultados de Cd, Cu, Pb y Zn en las estaciones BOY2 (Boya 2), MCAB (Cabotaje calle10), EMI (Emisario 8), FMAN (F Manzanares), y CLL22 (Puente calle 22), donde también se incluyeron los resultados obtenidos en el presente proyecto. Los metales Co y Mn no son analizados en el monitoreo REDCAM del Magdalena de acuerdo a la información contenida en (INVEMAR, 2020; INVEMAR, 2019a; INVEMAR, 2018a; INVEMAR, 2017; INVEMAR, 2016).

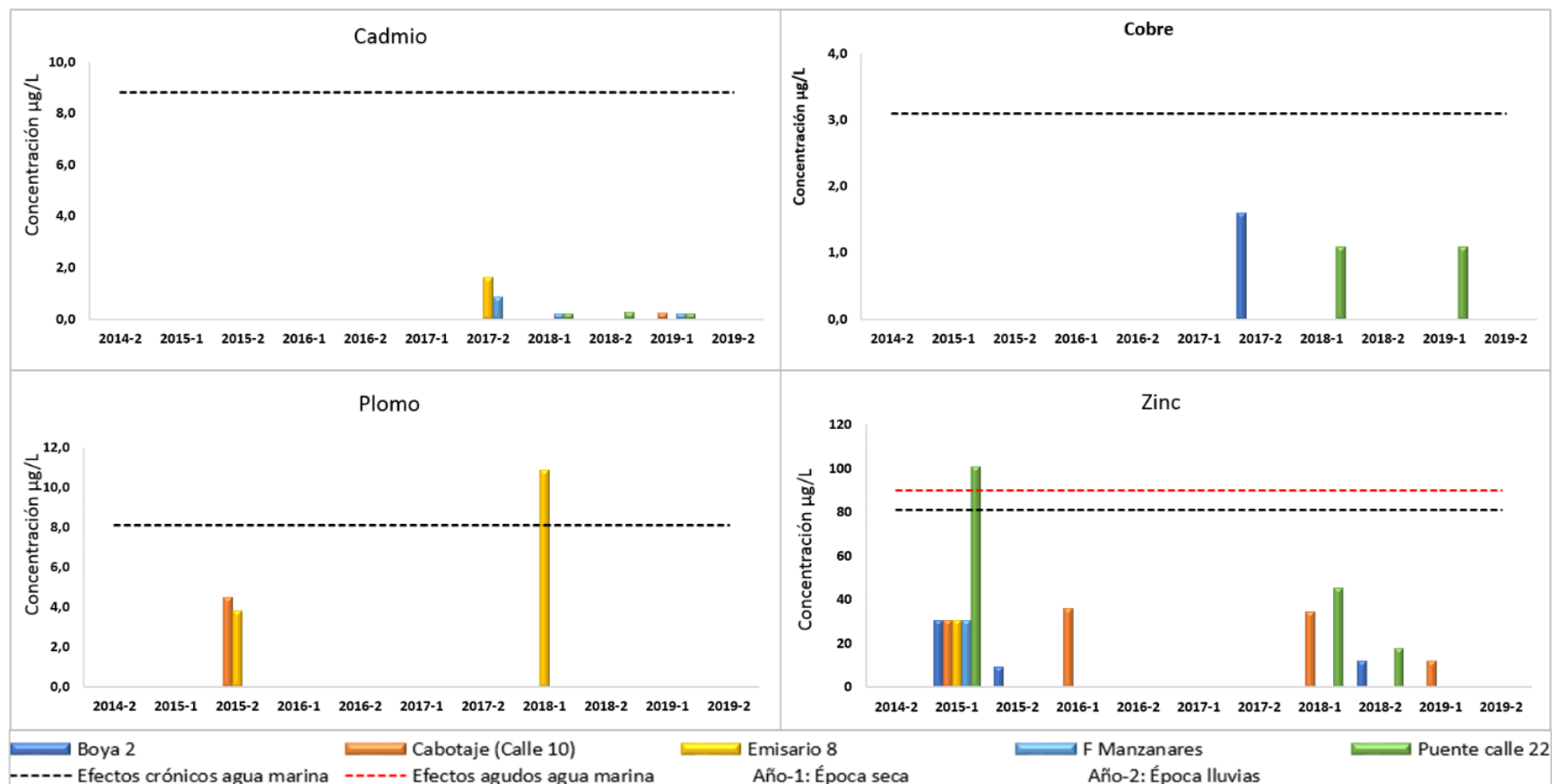


Figura 17. Comportamiento de Cd, Cu, Pb y Zn en los años 2014 al 2019.

Fuente: Autor, a partir de referencias (INVEMAR, 2020; INVEMAR, 2019a; INVEMAR, 2018a; INVEMAR, 2017; INVEMAR, 2016; INVEMAR, 2019b).

En la Figura 17, se puede observar que en la época seca del año 2015 (2015-1) en la estación Puente calle 22, la concentración del Zinc ($101 \mu\text{g Zn/L}$) superó el valor de referencia para efectos agudos en organismos marinos, propuesto por la NOAA de $90 \mu\text{g Zn/L}$ (Buchman, 2008). INVEMAR (2016) afirma que dicha estación está influenciada por vertimientos y escorrentías urbanas, además que en monitoreos anteriores no se ha superado el valor de referencia NOAA y recomiendan continuar con el seguimiento de la biodisponibilidad de este metal. En la época seca del año 2018 (2018-1) en la estación Emisario 8, la concentración del Plomo ($10,9 \mu\text{g Pb/L}$) superó el valor de referencia para efectos agudos en organismos marinos propuesto por la NOAA de $8.1 \mu\text{g Pb/L}$ (Buchman, 2008). En contraste con lo anterior para los años restantes, las concentraciones de Cd, Cu, Pb y Zn fueron reportadas por debajo de los valores de referencia para efectos crónicos en organismos marinos propuesto por la NOAA (Buchman, 2008) y los criterios de calidad del agua recomendados por la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA, 2016), en todas las estaciones. Los resultados obtenidos en el presente proyecto de Cobalto y Manganeseo (Ver Tabla 63), son los primeros en registrarse en las estaciones REDCAM de la Bahía de Santa Marta, teniendo en cuenta que INVEMAR no ha reportado concentraciones de dichos metales en los informes publicados entre el 2001 y 2020 debido a que hasta el momento no contaba con una técnica disponible para su análisis en agua de mar.

8.2.4. Metales disueltos en otras zonas del mundo

En la **Figura 18** se muestra una comparación de los resultados obtenidos de Cd, Co, Cu, Mn, Pb y Zn disueltos en la bahía de Santa Marta en este estudio, con investigaciones internacionales similares, teniendo en cuenta que fueron efectuadas en un contexto marino - costero con influencia antrópica, donde se determinaron contenidos de metales disueltos en muestras superficiales de agua de mar, previamente filtradas y preservadas con HNO_3 . En el estudio realizado en el Golfo Pérsico (Irán), se realizó preconcentración de muestras y lectura por EAA (Jafarabadi, et al., 2017). En la Bahía de Bengala, India se realizó EFS de muestras y lectura por ICP-MS (Achary, et al., 2016).

Por su parte en la Costa Ennore creek, India se realizó EFS y lectura por EAA (Jayaprakash, et al., 2015). En la costa Kalpakkam, al suroeste de la Bahía de Bengala, India se realizó preconcentración de muestras y lectura por ICP-MS (Padhi, et al., 2013). Por último, en la Costa de Cuddalore al Sureste de India, se realizó extracción líquido – líquido de las muestras y lectura por EAA (Jonathan, et al., 2008).

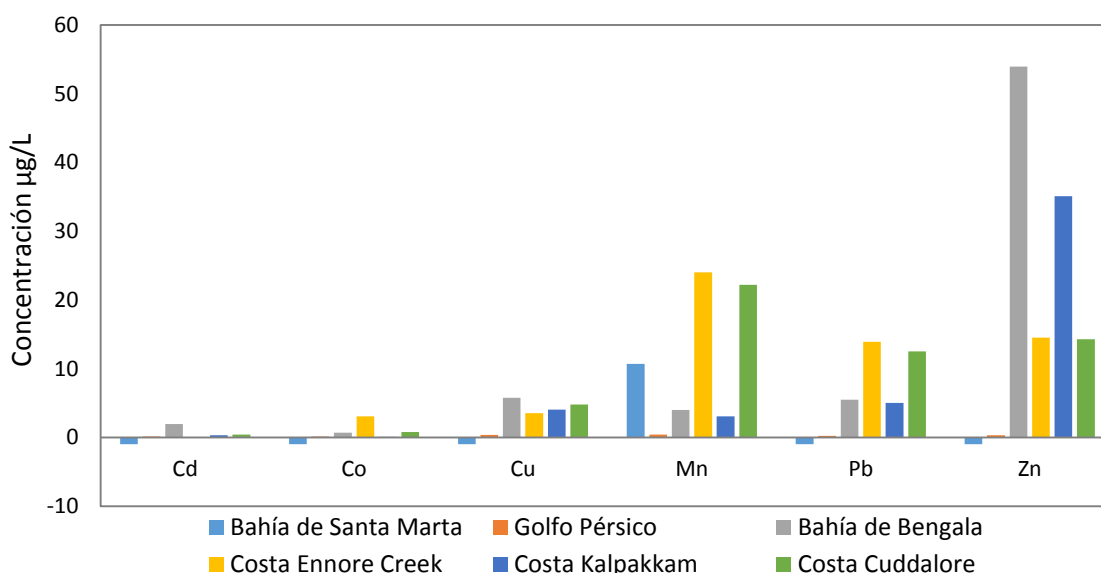


Figura 18. Comparación de Cd, Co, Cu, Mn, Pb y Zn disueltos en agua de la bahía de Santa Marta con otras costas del mundo. Las barras negativas indican que los resultados se encuentran por debajo de los niveles de detección del método, mientras que los espacios sin barra indican que no se realizó el análisis.

Fuente: Autor a partir de referencias (Jafarabadi, et al., 2017) (Achary, et al., 2016) (Jayaprakash, et al., 2015) (Padhi, et al., 2013) (Jonathan, et al., 2008)

El Cd, presentó una concentración en el agua de la Bahía de Bengala de 1.95 µg Cd/L (Achary et al., 2016), mientras que en las zonas costeras restantes los resultados fueron inferiores, incluido este estudio, que presentó un valor inferior al límite de cuantificación del método (ver **Figura 18**). Todos los resultados se encontraron por debajo del valor

límite para efectos crónicos ($7.90 \mu\text{g Cd/L}$) recomendado por la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA, 2016).

El Co, presentó una concentración en el agua de la Costa Ennore Creek de $3.04 \mu\text{g Co/L}$ (Jayaprakash, et al., 2015), superando el valor límite de referencia ($1.00 \mu\text{g Co/L}$) para efectos crónicos en organismos marinos propuesto por la NOAA (Buchman, 2008), mientras que en las zonas costeras restantes los resultados fueron inferiores, incluido este estudio, que presentó un valor por debajo del límite de cuantificación del método (ver **Figura 18**) y se encontraron por debajo del límite de referencia (Buchman, 2008).

El Cu, presentó una concentración en el agua de la Bahía de Bengala de $5.76 \mu\text{g Cu/L}$, superando el valor límite de referencia ($4.80 \mu\text{g Cu/L}$) para efectos agudos en organismos marinos propuesto por la NOAA (Buchman, 2008), seguido de las Costas Cuddalore (Jonathan, et al., 2008), Kalpakkam (Padhi, et al., 2013) y Ennore Creek (Jayaprakash, et al., 2015) con (4.80 , 4.06 y 3.53) $\mu\text{g Cu/L}$ respectivamente, las cuales superaron el valor límite de referencia ($3.10 \mu\text{g Cu/L}$) para efectos crónicos en organismos marinos propuesto por la NOAA (Buchman, 2008) mientras que en el Golfo Pérsico y el presente estudio se encontraron las concentraciones más bajas, siendo esta última inferior al límite de cuantificación del método (ver **Figura 18**) y se situaron por debajo de los límites de referencia (Buchman, 2008).

El Mn, presentó una concentración en el agua de la Costa Ennore Creek de $24.0 \mu\text{g Mn/L}$ (Jayaprakash, et al., 2015), mientras que en las zonas costeras restantes los resultados fueron inferiores, incluido este estudio, que presentó un valor de $10.7 \mu\text{g Mn/L}$ (ver **Figura 18**). Todos los resultados se encontraron por debajo del valor límite referencia ($100 \mu\text{g Mn/L}$) para efectos crónicos en organismos marinos propuesto por la NOAA (Buchman, 2008),

El Pb, presentó una concentración en el agua de la Costa Ennore Creek de 13.9 $\mu\text{g Pb/L}$ (Jayaprakash, et al., 2015), seguida de la Costa Cuddalore de 12.6 $\mu\text{g Pb/L}$ (Jonathan, et al., 2008), los cuales superaron el valor límite de referencia (8.10 $\mu\text{g Pb/L}$) para efectos crónicos en organismos marinos propuesto por la NOAA (Buchman, 2008); mientras que en las zonas costeras restantes los resultados fueron inferiores, incluido este estudio, que presentó un valor por debajo del límite de cuantificación del método (ver **Figura 18**) y se encontraron por debajo del límite de referencia (Buchman, 2008).

El Zn, presentó una concentración en el agua de la Bahía de Bengala de 54.0 $\mu\text{g Zn/L}$ (Achary et al., 2016), mientras que en las zonas costeras restantes los resultados fueron inferiores, incluido este estudio, que presentó un valor por debajo del límite de cuantificación del método (ver **Figura 18**). Todos los resultados se encontraron por debajo del valor límite referencia (81.0 $\mu\text{g Zn/L}$) para efectos crónicos en organismos marinos propuesto por la NOAA (Buchman, 2008).

Luego de comparar las concentraciones de metales disueltos obtenidos en el presente estudio de la bahía de Santa Marta con otros de 5 zonas costeras de Irán e India se logró evidenciar el Golfo Pérsico presentó las concentraciones más bajas de Cd, Co, Cu, Mn, Pb y Zn disueltos en agua de mar, seguida de la bahía de Santa Marta, y no superaron los valores de referencia para efectos crónicos y agudos en organismos marinos propuesto por la NOAA (Buchman, 2008) y los criterios de calidad del agua recomendados por la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA, 2016). Sin embargo, la bahía de Bengala como consecuencia de las adiciones de contaminantes al medio marino producto de actividades antrópicas (Achary et al., 2016) y la costa de Kalpakkam por descargas residuales industriales (planta de energía atómica, vertimiento agrícolas y acuícolas) y residuales domésticas (Padhi et al., 2013), superaron los valores límite de referencia para Cu (Buchman, 2008). La Costa Cuddalore debido a la influencia del río Uppanar, puerto marítimo, exploración de petróleo,

industrias químicas y centrales eléctricas (Jonathan et al., 2008) superó los valores límites de referencia para Cu y Pb (Buchman, 2008). Por último, y la más afectada fue la costa Ennore Creek, debido a actividades antropogénicas intensivas de la mega ciudad Chennai e influencia de los ríos Kortalaiyar y Kosistalaiar (Jayaprakash et al., 2015) superó los límites de referencia de Cu, Co y Pb (Buchman, 2008).

8.3. Conclusiones

En todos los puntos estudiados se detectó concentración de Mn, lo que permitió identificar tres vías de ingreso de este metal a la bahía de Santa Marta. La primera fue la desembocadura del río Manzanares, la cual afecta en mayor proporción el punto BMAN y PBAT. La segunda fue la escorrentía terrestre que es una de las rutas más comunes para los metales que ingresan al medio marino costero (Achary et al., 2016), como se evidenció en las zonas de los puntos MCAB y CLL22, por último, la descarga de aguas residuales domésticas a través del emisario submarino en la zona del punto EMI.

Se logró evaluar las concentraciones de Cd, Co, Cu, Mn, Pb, y Zn disueltos en aguas de la bahía de Santa Marta, Magdalena, y se encontró que estas fueron inferiores a los valores de referencia para efectos crónicos y agudos en organismos marinos propuesto por la NOAA (Buchman, 2008) y los criterios de calidad del agua recomendados por la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA, 2016). Los resultados fueron obtenidos a partir de muestras recolectadas el día 10 de octubre de 2019 en época de lluvia en nueve puntos (PBAT, BMAN, FMAN, CLL22, PMUN, MCAB, BOY2, BOY3 y EMI).

A través del presente estudio, se logró comprobar, que a pesar de ser afectada por la descarga de aguas residuales domésticas, escorrentías urbanas de la ciudad, el río Manzanares (INVEMAR, 2020) y ser el centro de actividades económicas como, turismo, pesca, transporte y almacenamiento de carbón (INVEMAR-GEO, 2014; Bastidas et al., 2016) la bahía de Santa Marta se encuentra con una línea base de Cd, Co, Cu, Pb y Zn disueltos por debajo de los niveles de detección del método. Principalmente por el efecto diluyente que posee como consecuencia de su tamaño y volumen (Boluda & Egea, 2017). En este sentido, uno de los retos que actualmente tienen las instituciones de investigación marina como el INVEMAR, es continuar en la búsqueda de metodologías que sean cada vez más sensibles para poder llegar a valores de cuantificación más bajos y así poder fortalecer el seguimiento que se realiza a través del monitoreo continuo. Lo anterior, va a permitir detectar los cambios antropogénicos inducidos en mares y océanos e identificar las razones de estos cambios (Vethaak, et al., 2017).

9. CONCLUSIONES GENERALES

Para poder lograr el objetivo general del presente estudio fue necesario cumplir sistemáticamente con el desarrollo de los siguientes objetivos específicos:

Se logró la implementación de una novedosa metodología en Colombia, la cual contempla el montaje de un sistema manual, para extracción y concentración de metales disueltos en agua de mar a partir de la resina *NC PA-1*. Gracias a la posibilidad del análisis multielemental por ICP-OES, se realizaron pruebas preliminares de porcentaje de recuperación en blancos fortificados y muestras de mar con adicionados conocidos de Ag, Al, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, V y Zn. Sin embargo, a partir del análisis de los resultados obtenidos, se concluyó que el método permite una separación satisfactoria de Cd, Co, Cu, Mn, Pb y Zn disueltos a $\text{pH } 6.00 \pm 0.05$.

Se Validó el método para la determinación de Cd, Co, Cu, Mn, Pb y Zn disueltos, basado en la preconcentración y limpieza de muestras de mar empleando la resina *NC PA-1*, y lectura por ICP-OES, según SM 3030 B y SM 3120 B, bajo las condiciones ambientales y operacionales del LABCAM-INVEMAR, con una precisión en términos de $RSD < 15 \%$, y una veracidad en términos de recuperación entre (60 - 110) %. Adicionalmente se calculó la incertidumbre del método en rango bajo medio y alto, a partir de la identificación de las fuentes individuales de incertidumbre según (EURACHEM/CITAC, 2012)

A partir de la metodología validada se logró determinar las concentraciones de Cd, Co, Cu, Mn, Pb, y Zn disueltos en muestras de agua de la bahía de Santa Marta, Magdalena. Los resultados fueron obtenidos a partir de muestras recolectadas el día 10 de octubre de 2019 en época de lluvia en nueve puntos comprendidos entre el área de influencia del emisario submarino (EMI), Boya 2 (BOY2), Boya 3 (BOY3), Muelle Cabotaje (MCAB), Playa municipal (PMUN), Puente calle 22 (CLL22), el área de la desembocadura del río Manzanares (BMAN), frente al río Manzanares (FMAN) hacia el extremo marítimo y Playa batallón (PBAT). Finalmente se evaluó el contenido de los metales objetivo por comparación con los valores de referencia para efectos crónicos y agudos en organismos marinos propuesto por la NOAA (Buchman, 2008) y los criterios de calidad del agua recomendados por la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA, 2016) y se encontró que estos se encuentran por debajo de las referencias internacionales.

Luego de sintetizar los resultados de Cd, Cu, Pb y Zn disueltos en aguas de la bahía de Santa Marta, publicados por INVEMAR entre el año 2014 y 2019, se evidenció que en época de lluvias las concentraciones fueron inferiores a los valores de referencia para efectos crónicos y agudos en organismos marinos propuesto por la NOAA (Buchman,

2008) y los criterios de calidad del agua recomendados por la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA, 2016); mientras que en época seca de 2015 se encontró una concentración de Zn ($101 \mu\text{g Zn/L}$) y en 2018 de Pb ($10,9 \mu\text{g Pb/L}$) que superaron los valores de referencia de $90 \mu\text{g Zn/L}$ y $8.1 \mu\text{g Pb/L}$ respectivamente (Buchman, 2008).

A nivel internacional el agua de la bahía de Santa Marta presentó contenidos de Cd, Co, Cu, Mn, Pb, y Zn disueltos inferiores a los encontrados en la bahía de Bengala, India (Achary et al., 2016), Costa Ennore creek, India (Jayaprakash et al., 2015), costa Kalpakkam, al suroeste de la Bahía de Bengala (Padhi, et al., 2013) y Costa de Cuddalore al Sureste de India (Jonathan, et al., 2008). Estos fueron comparados teniendo en cuenta, aspectos similares a este estudio, como haber sido desarrollados en un contexto marino - costero con influencia antrópica, muestreos puntuales superficiales, preconcentración de las muestras y a pesar que difieren en la técnica usada para las lecturas de los extractos (EAA, e ICP-MS) los resultados fueron comparables, considerando que dichas metodologías son normalizadas y reconocidas internacionalmente, lo que las hace confiables. En conclusión, se demuestra que la contaminación por dichos metales actualmente no es evidente en el área estudiada en el presente proyecto. Aunque, podría llegar a serlo en el futuro, por lo que se deben sumar esfuerzos por parte de las industrias, para que adopten procesos que minimicen los impactos en el medio ambiente, las instituciones de investigación, en el entendimiento de los efectos que producen los contaminantes en los diferentes ecosistemas y las autoridades ambientales, para que a través de la información científica suministrada en este y otros estudios puedan argumentar una legislación que permita un desarrollo sostenible en Colombia.

10. RECOMENDACIONES

Realizar pruebas con adicionados en muestras de mar a pH diferente a $6.00 \pm 0,05$ para evaluar la posible extracción de otros metales disueltos además de los validados en este proyecto.

Extender la cantidad de metales contemplados en los monitoreos de seguimiento realizados por INVEMAR, con el fin de ampliar el conocimiento de la presencia de estos en las costas Caribe y Pacíficas Colombianas.

REFERENCIAS

- Achary, M., Panigrahi, S., Satpathy, K., Prabhu, R., & Panigrahy, R. (2016). Health risk assessment and seasonal distribution of dissolved trace metals in surface waters of Kalpakkam, southwest coast of Bay of Bengal. *Regional Studies in Marine Science* 6, 96-108. doi:<https://doi.org/10.1016/j.rsma.2016.03.017>
- APHA, AWWA y WEF. (2017). *Standard Methods for the examination of water and wastewater* (Vol. 23 edition). Washington.
- Arenas, I., & López, J. (2004). *Espectrofotometría de absorción*. Universidad Nacional Autónoma de México, Cuernavaca. Retrieved from http://www.ibt.unam.mx/computo/pdfs/met/espectrometria_de_absorcion.pdf
- Barros, O., Doria, C., & Marrugo, J. (2016). Metales pesados (Pb, Cd, Ni, Zn, Hg) en tejidos de *Lutjanus synagris* y *Lutjanus vivanus* de la Costa de La Guajira, Norte de Colombia. *Veterinaria y Zootecnia - Universidad de Caldas*. doi:10.17151/vetzo.2016.10.2.3
- Bastidas, M., Ordóñez, S., & Ricaurte, C. (2016). Eventos de intensificación y relajación del viento en la Bahía de Santa Marta (Caribe Colombiano): Implicaciones oceanográficas. *Scielo*, 45(2), 181-196.
- Boluda, N., & Egea, E. (2017). *Evaluación del impacto medioambiental de los vertidos al mar de aguas depuradas*. Alicante. Retrieved from <http://hdl.handle.net/10045/74107>
- Buchman, M. (2008). *Screening Quick Reference Tables (SQuiRTs)*. NOAA OR&R report 08-1 Seattle WA, office of response and restoration division, national oceanic and atmospheric administration.
- Cadavid, E., Pérez, N., & Marrugo, J. (2019). Metales pesados en macromicetos del manglar de la Bahía Cispatá, Córdoba, Colombia. *UDCA Actualidad y divulgación científica*, 1-9. doi:<https://doi.org/10.31910/rudca.v22.n1.2019.1082>

Carrizo, J., Uribe, M., & Hernandez, O. (2007). Diagramas de predominancia, de frost y de pourbaix: tres contextos para desarrollar competencias en procesos de óxido-reducción. *Scientia Et Technica*, 1(34), 569-574. doi:<http://dx.doi.org/10.22517/23447214.5691>

Convención de las Naciones Unidas sobre el Derecho del Mar. (1992)., (pp. 8-230). Retrieved from https://www.un.org/Depts/los/convention_agreements/texts/unclos/convemar_es.pdf

Departamento Administrativo Nacional Electoral (DANE). (2019). *Resultados Censo Nacional de Población y Vivienda 2018*. Santa Marta.

Dunia, R. (2017). Intoxicación ocupacional por metales pesados. *Scielo MEDISAN*, 3372-3385. Retrieved from http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1029-30192017001200012&lng=es&tlng=es

EPA. (2016). *National Recommended Water Quality Criteria*. Environmental Protection Agency of US. Retrieved from <https://www.epa.gov/wqc/national-recommended-water-quality-criteria-aquatic-life-criteria-table>

Espina , S., & Vanegas, C. (2005). *Golfo de México, contaminación e impacto ambiental: diagnóstico y tendencias*. *Ecotoxicología y contaminación*. (A. Botello, V. Rendón, G. Gold, & A. C, Eds.) Retrieved from <https://books.google.com.co/books?id=WwuryOF1jUEC&pg=PA95&dq=metales+pesados+en+agua+de+mar&hl=es-419&sa=X&ved=2ahUKEwiK3vaQkljqAhVLdt8KHeWcBE8Q6AEwAHoECAIQAg#v=onepage&q=metales%20pesados%20en%20agua%20de%20mar&f=false>

EURACHEM/CITAC. (2012). *Cuantificación de la Incertidumbre en Medidas Analíticas*. España: Eurolab. Retrieved from https://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/QUAM2012_P1_ES.pdf

- EuroLab España. P.P. Morillas y colaboradores. (2016). *Guía de Eurachem: La adecuación al uso de los métodos analíticos. Una guía de laboratorio para Validación de Método y Temas relacionados*. Primera Edición Española. Retrieved from www.eurachem.org
- Gary, D. (2009). *Química analítica*. D.F., Mexico: MCGRAW-HILL/INTERAMERICANA EDITORES, S. A. DE C. V.
- Herbello, P. (2007). *Especiación de metales pesados mediante la formación de quelatos. Distribución de las especies inorgánicas de As y Cr en la Ría de Arousa*.
- Hernández, J. (2012). Especiación de metales pesados contaminantes en los suelos y acuífero del Río de los Remedios. *Repositorio Instituto Politécnico Nacional*, 1-58. Retrieved from <https://www.repositoriodigital.ipn.mx/bitstream/123456789/16244/1/Tesis%2520Janette%2520IPN.pdf>
- IDEAM. (2005). *Atlas Climatológico de Colombia: Part 2, Distribución espacio-temporal de las variables del clima*. p. Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales, Bogotá.
- IDEAM. (2019). *Resumen de la situación sinóptica del mes de octubre de 2019 N° 10*. Bogotá.
- Instituto Nacional de seguridad y salud en el trabajo INSST. (2012). *Metales propiedades químicas y toxicidad. Enciclopedia de salud y seguridad en el trabajo*. Retrieved from <https://www.insst.es/documents/94886/162520/Cap%C3%ADtulo+63.+Metales+propiedades+qu%C3%ADmicas+y+toxicidad>
- International Union Of Pure and Applied Chemistry. (2018). *IUPAC Periodic Table Of the Elements*. Retrieved from https://iupac.org/wp-content/uploads/2018/12/IUPAC_Periodic_Table-01Dec18.jpg

- INVEMAR. (2016). *Diagnóstico y Evaluación de la Calidad de las Aguas Marinas y Costeras en el Caribe y Pacífico Colombianos. Informe Técnico 2015*. Santa Marta.
- INVEMAR. (2017). *Diagnostico y evaluación de calidad de aguas marinas y costeras en el caribe y pacifico Colombianos. Informe técnico 2016*. Santa Marta. Retrieved from <http://www.invemar.org.co/documents/10182/14479/Informe+REDCAM+2016.pdf/b21d50f5-cd2d-4926-a016-b321cc9659e7>
- INVEMAR. (2017). *Informe técnico 2016 diagnostico y evaluación de calidad de aguas marinas y costeras en el caribe y pacifico Colombianos*. Santa Marta. Retrieved from <http://www.invemar.org.co/documents/10182/14479/Informe+REDCAM+2016.pdf/b21d50f5-cd2d-4926-a016-b321cc9659e7>
- INVEMAR. (2018a). *Diagnóstico y Evaluación de la Calidad de las Aguas Marinas y Costeras en el Caribe y Pacífico Colombianos. Informe Técnico 2017*. Santa Marta.
- INVEMAR. (2018b). *Manual de calidad analítico 2*. Santa Marta: LABCAM.
- INVEMAR. (2018c). *Procedimiento para la determinación de metales en aguas por ICP-OES*. Santa Marta: LABCAM.
- INVEMAR. (2018d). *Toma, preservación y almacenamiento de muestras*. Santa Marta: LABCAM.
- INVEMAR. (2019a). *Diagnostico y evaluación de calidad de aguas marinas y costeras en el caribe y pacifico Colombianos. Informe Técnico 2018*. Santa Marta.
- INVEMAR. (2019b). *Extracción y concentración para la determinación de metales disueltos en muestras de agua marina*. Santa Marta: LABCAM.
- INVEMAR. (2020). *Diagnóstico y evaluación de la calidad de Aguas Marinas y Costeras en el Caribe y Pacífico Colombianos Informe técnico*. REDCAM. Retrieved from

http://www.invemar.org.co/documents/10182/14479/Informe+REDCAM+2014_FINAL_ISSN+Digital.pdf

INVEMAR. (2020). *Diagnóstico y Evaluación de la Calidad de las Aguas Marinas y Costeras en el Caribe y Pacífico Colombianos. Informe Técnico 2019*. Santa Marta. doi:<https://n2t.net/ark:/81239/m9n67z>

INVEMAR-GEO. (2014). *Dispersión de sedimentos mediante el estudio de la dinámica meteo-marina en el sector Isla-Salamanca – PNN Tayrona (departamento del Magdalena)*. Santa Marta.

IUPAC. (2002). “HEAVY METALS”—A MEANINGLESS TERM? 793-807.

Jafarabadi, A., Bakhtiyari, A., Toosi, A., & Jadot, C. (2017). Spatial distribution, ecological and health risk assessment of heavy metals in marine surface sediments and coastal seawaters of fringing coral reefs of the Persian Gulf, Iran. *Chemosphere Elsevier*, 1090-1111. doi:<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.07.110>

Jayaprakash, M., Senthil , R., Giridharan, L., Giridharan, L., Sujitha, S., Sarkar, S., & Jonathan, M. (2015). Bioaccumulation of metals in fish species from water and sediments in macrotidal Ennore creek, Chennai, SE coast of India: A metropolitan city effect. *Ecotoxicol.*, 120, 243-255. doi:10.1016/j.ecoenv.2015.05.042

Jonathan, M., Srinivasalu, S., Thangadurai, N., Ayyamperumal, T., Armsrtrong, J., & Ram, V. (2008, 2008). Contamination of Uppanar River and Coastal Waters off Cuddalore, Southeast Coast of India. *Environ*, 53, 139-144. doi:10.1007 / s00254-007-0748-0

Jurado, J. (2008). *Aplicación de Microsoft Excel a la Química Analítica: validación de métodos analítticos*. Universidad de Sevilla, Sevilla. Retrieved from <https://personal.us.es/jmjurado/docs/AQAEXCEL.pdf>

Larios Bayona , M. (2014). *Niveles de Cd, Co, Cr, Cu, Ni, Pb y Zn en los suelos de ribera de la cuenca del río Turia*. Universidad Autónoma de Barcelona, Universidad Pública de Navarra. Barcelona: Universidad de Lleida. Retrieved from <http://hdl.handle.net/10261/141280>

- Londoño, L., Londoño, P., & Muñoz, F. (2016). Los riesgos de los metales pesados en la salud humana y animal. *Biotecnología en el sector agropecuario y agroindustrial Scielo*, 145-153. doi:10.18684/BSAA(14)145-153
- Macias, R., Garcia, T., & Taborda, M. (1998). *Determinación de los niveles de metales pesados manganeso, plomo, cobre, hierro, zinc, cadmio y mercurio en aguas y sedimentos en el sector "El Boqueron" de la Bahía de Santa Marta*. (U. d. Magdalena, Ed.) Santa Marta. Retrieved from <http://centrodocumentacion.invemar.org.co/cgi-bin/koha/opac-detail.pl?biblionumber=8122>
- Martínez G, Senior W, & Márquez A. (2006). Especiación de metales pesados en la fracción disuelta de las aguas superficiales de la cuenca baja y la pluma del Río Manzanares, Estado Sucre, Venezuela. *Ciencias Marinas Scielo*, 239-257. Retrieved from http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-38802006000400004
- Merciai, R., Guasch, H., Kumar, A., Sabater, S., & García-Berthou, E. (2014). Trace metal concentration and fish size: Variation among fish species in a Mediterranean river. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 107, 154-161. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.05.006>
- Miler, J., & J, M. (2002). *Estadística y Quimiometría para Química Analítica* (4 ed.). Madrid: PEARSON EDUCACIÓN. SA.
- Minami, T., Konagaya, W., Zheng, L., Takano, S., Sasaki, M., Murata, R., . . . Sohrin, Y. (2015). An off-line automated preconcentration system with ethylenediaminetriacetate chelating resin for the determination of trace metals in seawater by high-resolution inductively coupled plasma mass spectrometry. *Analytica Chimica*, 183-190. doi:<https://doi.org/10.1016/j.aca.2014.11.016>

- Moscarella, M., García, F., & Palacio, C. (2011). Calidad microbiológica del agua de la bahía de santa marta, Colombia. *DYNA*, 78(167), 132-141. Retrieved from <https://revistas.unal.edu.co/index.php/dyna/article/view/25776/39410>
- Muñoz, M. (sf). *Características y usos de los diagramas de Pourbaix*. Universidad Politecnica de Valencia.
- Padhi, R., Biswas, S., Mohanty, A., Prabhu, R., Satpathy, K., & Nayak, L. (2013). Temporal distribution of dissolved trace metal in the coastal waters of southwestern Bay of Bengal, India, Water. *Environ*, 85(8), 696-705. doi:10.2175 / 106143012X13560205144975
- Plan de Ordenamiento Territorial (POT). (2018-2030). Diagnostico anexo dimensión ambiental.
- Pourbaix, M. (1974). *Atlas of Electrochemical Equilibria in Aqueous Solutions* (Second English ed.). Houston: NATIONAL ASSOCIATION OF CORROSION ENGINEERS.
- Quéroué, F., Townsend, A., Van Der Merwe, P., Lannuzel, D., Sarthou, G., Bucciarelli, E., & Bowie, A. (2014). Advances in the offline trace metal extraction of Mn, Co, Ni, Cu, Cd, and Pb from open ocean seawater samples with determination by sector field ICP-MS analysis. *Analytical Methods*, 6(9), 2837-2847. doi:10.1039/c3ay41312h
- Ramos, Y., & Salas, K. (2015). Evaluación de metales pesados en aguas superficiales en el area de influencia al emisario submarino en el corregimiento de Punta Canoas departamento de Bolivar (Tesis de pregrado). *Universidad de Buenaventura seccional Cartagena*. Retrieved from http://bibliotecadigital.usbcali.edu.co/bitstream/10819/2844/1/Evaluaci%C3%B3n%20metales%20pesados_Castillo_2015.pdf
- Rapp, I., Schlosser, C., Rusiecka, D., Gledhill, M., & Achterberg, E. (2017). Achterberg, E. P. *Preconcentración automatizada de Fe, Zn, Cu, Ni, Cd, Pb, Co y Mn en agua de mar con análisis mediante espectrometría de masas de plasma de campo*

- sectorial de alta resolución acoplada inductivamente*, 976, 1-13.
doi:<https://doi.org/10.1016/j.aca.2017.05.008>
- Reyes, Y., Vergara, I., Torres, O., Días, M., & González, E. (2016). Contaminación por metales pesados: Implicaciones en salud, ambiente y seguridad alimentaria. *Ingeniería Investigación Y Desarrollo*, 16, 66-77.
doi:10.19053/1900771X.v16.n2.2016.5447
- Rodriguez, D. (2017). Intoxicación ocupacional por metales pesados. *MEDISAN*.
- Rodríguez, S., Pellerano, R., Romero, C., Acevedo, H., & Vázquez, F. (2012). Validación de un método analítico para la determinación de boro en muestras foliares de *Citrus reticulata*. *Revista Tumbaga*, 1(7), 55-71. Retrieved from <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4550292>
- Sánchez, J. (2012). Evaluación, distribución e impacto de contaminantes orgánicos prioritarios y emergentes en aguas costeras. *Universidad de Barcelona*.
- Santamaria, Y., & Olivero, E. (2015). *Aplicación del software hsc para la construcción de diagramas de pourbaix*. Bucaramanga.
- SHIMADZU. (2014). Instruction Manual - Shimadzu Multitype ICP Emission Spectrometer ICPE-9800 Series .
- Sohrin, Y., Urushihara, S., Nakatsuka, S., Kono, T., Higo, E., Minami, T., . . . Umetani, S. (2008). Multielemental Determination of GEOTRACES Key Trace Metals in Seawater by ICPMS after Preconcentration Using an Ethylenediaminetriacetic Acid Chelating Resin. *Anal. Chem.*, 80(16), 6267–6273.
doi:10.2116/analsci.19P069
- Solano, A. (2008). Movilización de metales pesados en residuos y suelos industriales afectados por la hidrometalurgia del cinc. *Biblioteca universitaria Digitum Universidad de Murcia*. Retrieved from <https://digitum.um.es/digitum/bitstream/10201/190/16/Tasm16de16.pdf>

- Soriano, B. (2015). *Determinación multielemental de metales traza en agua de mar*. Valencia.
- Takano, S., Tanimizu, M., Hirata, T., Shin, K., Fukami, Y., Suzuki, K., & Sohrin, Y. (2017). A simple and rapid method for isotopic analysis of nickel, copper, and zinc in seawater using chelating extraction and anion exchange. *Analytica Chimica*, 1-11. doi:<https://doi.org/10.1016/j.aca.2017.03.010>
- Tanaka, Y., Tusujizaca, M., Zheng, L., Takano, S., & Sohrin, Y. (2019). Application of NOBIAS Chelate PA-1 resin to the determination of zirconium, niobium, hafnium, and tantalum in seawater. 35(9). doi:10.2116/analsci.19P069
- Teknokroma. (s.f.). Extracción en fase sólida (SPE).
- Vethaak, A., Davies, I., Thain, J., Gubbins, M., Martínez-Gómez, C., Robinson, C., . . . Hylland, K. (2017). Integrated indicator framework and methodology for monitoring and assessment of hazardous substances and their effects in the marine environment. *Marine Environmental Research*.
- WALCO. (1997). *Todo sobre los quelatos*.
- Xie, M., & Wank, W. (2020). Contrasting temporal dynamics of dissolved and colloidal trace metals in the Pearl River Estuary. *Environmental Pollution*. doi:<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.114955>
- Xing, G., Sardar, M., Lin, B., & Lin, J. (2019). Análisis de metales traza en muestras de agua utilizando resinas de quelatos NOBIAS por HPLC e ICP-MS. *Talanta*, 50-56. doi:<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.05.041>
- Yoshinori, I., Hideyuki, Y., Mitsuru, S., & Shigehiro, K. (2004). Chelating resin patent. *Espace net*. Retrieved from https://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/biblio?FT=D&date=20100902&DB=&locale=en_EP&CC=WO&NR=2010098257A1&KC=A1&ND=2

APÉNDICE

APÉNDICE A. COMPROBACIÓN DEL LDM Y LCM - CADMIO

		RE-LABCAM
DETERMINACIÓN LDM Y LCM		
METODO:	Determinación de metales en aguas marinas por ICP-OES SM 3120B - Limpieza de muestras con resina NOBIAS Chelate PA-1	Fecha: 29/10/2019
OBJETIVO:	Estimar y comprobar el valor del LCM de Cd en muestra de mar concentrada 13,3 veces con la resina NC PA-1	
EQUIPO:	ICPE-9820	ANALISTA: Carlos Jaimes
DESCRIPCIÓN: Para esta prueba, se preconcentró a partir de la de la resina NOBIAS Chelate PA-1, diez réplicas de muestra de océano abierto de código interno (13180) con una concentración adicionada de 0,40 µg Cd/L. Inicialmente se adecuó la resina pasando a través de ella 15mL de HNO ₃ 1M, 30mL de agua desionizada microfiltrada y 40 mL de Buffer 0,05M (pH:6,0), después se midió 200 mL de agua desionizada microfiltrada para cada replica, se adicionó 3 ml de buffer 0,05M y se ajustó a pH 6.00 ± 0.05 con amoniaco y HNO ₃ , luego la muestra se inyectó manualmente, por medio de una jeringa plástica, a través de la resina y finalmente se inyectó en sentido inverso 15 mL de HNO ₃ 1M, este eluato FC:13,3 se almacenó en un vial de plástico. Finalmente, las réplicas se analizaron siguiendo el procedimiento descrito PR-LABCAM-62 para determinación de metales disueltos en aguas. Se determinó inicialmente que la muestra no tiene concentración de cadmio.		
Concentración esperada (µg Cd/L)	5,33	0,40
Réplica	Concentración en el eluato (µg Cd/L)	concentración real (µg Cd/L)
1	5,04	0,38
2	5,22	0,39
3	5,13	0,38
4	5,06	0,38
5	4,95	0,37
6	5,20	0,39
7	5,26	0,39
8	5,14	0,39
9	5,21	0,39
10	4,94	0,37
Promedio	5,12	0,38
SD	0,11	0,0085
RSD	2,22	2,22
% Recuperación	95,9	95,9
Valor Mínimo	4,94	0,37
Valor Máximo	5,26	0,39
T rechazo al LC 95%	2,18	2,18
T de Rechazo de datos (Valor Mínimo)	1,54	1,54
T de Rechazo de datos (Valor máximo)	1,28	1,28
Valor critico 99% n-1	2,82	2,82
LDM	0,32	0,024
LCM estimado	1,13	0,09
CONCLUSIONES: La concentración estimada como LCM 0,09 µg Cd/L, se encuentra por debajo del límite inferior de trabajo de la curva de calibración, por lo tanto, se establece la concentración de 0,40 µg Cd/L, como LCM del método, debido a que después de la repetibilidad realizada se obtuvo una RSD de 2,22 % y una recuperación de 95,9 %, lo cual, se encuentra dentro de los criterios de aceptación del LABCAM. RSD < 15% y % Recuperación (60-110) %		


APÉNDICE B. COMPROBACIÓN DEL LDM Y LCM - COBALTO

		RE-LABCAM
DETERMINACIÓN LDM Y LCM		
METODO:	Determinación de metales en aguas marinas por ICP-OES SM 3120B - Limpieza de muestras con resina NOBIAS Chelate PA-1	Fecha: 29/10/2019
OBJETIVO:	Estimar y comprobar el valor del LDM de Co en agua de mar concentrada 13,3 veces con la resina NC PA-1	
EQUIPO:	ICPE-9820	ANALISTA: Carlos Jaimes
DESCRIPCION: Para esta prueba, preconcentró a partir de la resina NOBIAS Chelate PA-1 diez réplicas de muestra de océano abierto de código interno (13180) con una concentración adicionada de 0,40 µg Co/L. Inicialmente se adecuó la resina pasando a través de ella 15mL de HNO ₃ 1M, 30mL de agua desionizada microfiltrada y 40 mL de Buffer 0,05M (pH:6,0), después se midió 200 mL de muestra de mar microfiltrada para cada replica, se adicionó se adicionó 3 ml de buffer 0,05 M y se ajustó a pH 6.00 ± 0.05 con amoniaco y HNO ₃ , luego la muestra se inyectó manualmente, por medio de una jeringa plástica, a través de la resina y finalmente se inyectó en sentido inverso 15 mL de HNO ₃ 1M, este eluato FC:13,3 se almacenó en un vial de plástico. Finalmente, las réplicas se analizaron siguiendo el procedimiento descrito PR-LABCAM-62 para determinación de metales disueltos en aguas. Se determinó inicialmente que la muestra no tiene concentración del mensurando.		
Concentración esperada (µg Co/L)	5,33	0,40
Réplica	Concentración en el eluato (µg Co/L)	concentración real (µg Co/L)
1	4,97	0,37
2	5,42	0,41
3	5,42	0,41
4	5,21	0,39
5	4,92	0,37
6	4,65	0,35
7	5,52	0,41
8	5,22	0,39
9	5,11	0,38
10	5,23	0,39
Promedio	5,17	0,39
SD	0,26	0,020
RSD	5,13	5,13
% Recuperación	96,9	96,9
Valor Mínimo	4,65	0,35
Valor Máximo	5,52	0,41
T rechazo al LC 95%	2,18	2,18
T de Rechazo de datos (Valor Mínimo)	1,95	1,95
T de Rechazo de datos (Valor máximo)	1,33	1,33
Valor critico 99% n-1	2,82	2,82
LDM	0,75	0,056
LCM estimado	2,65	0,20
CONCLUSIONES: La concentración estimada como LCM 0,20 µg Co/L, se encuentra por debajo del límite inferior de trabajo de la curva de calibración, por lo tanto, se establece la concentración de 0,40 µg Co/L, como LCM del método, debido a que después de la repetibilidad realizada se obtuvo una RSD de 5,13 % y una recuperación de 96,9 %, lo cual, se encuentra dentro de los criterios de aceptación del LABCAM. RSD < 15 % y Recuperación (60-110) %		
Nota: Si el T calculado es mayor que el T de la Tabla para un 95% de confianza se rechaza el dato. Si se rechazan más de dos datos, se repite el ensayo.		


APÉNDICE C. COMPROBACIÓN DEL LDM Y LCM - COBRE

		RE-LABCAM
DETERMINACIÓN LDM Y LCM		
METODO:	Determinación de metales en aguas marinas por ICP-OES SM 3120B - Limpieza de muestras con resina NOBIAS Chelate PA-1	Fecha: 29/10/2019
OBJETIVO:	Estimar y calcular el valor del LDM de Cu en agua de mar concentrada 13,3 veces con la resina NC PA-1	
EQUIPO:	ICPE-9820	ANALISTA: Carlos Jaimes
DESCRIPCION: Para esta prueba, preconcentró a partir de la resina NOBIAS Chelate PA-1 diez réplicas de muestra de océano abierto de código interno (13180) con una concentración adicionada de 2,50 µg Cu/L. Inicialmente se adecuó la resina pasando a través de ella 15mL de HNO ₃ 1M, 30mL de agua desionizada microfiltrada y 40 mL de Buffer 0,05M (pH:6,0), después se midió 200 mL de muestra de mar microfiltrada para cada replica, se adicionó se adicionó 3 ml de buffer 0,05 M y se ajustó a pH 6.00 ± 0.05 con amoníaco y HNO ₃ , luego la muestra se inyectó manualmente, por medio de una jeringa plástica, a través de la resina y finalmente se inyectó en sentido inverso 15 mL de HNO ₃ 1M, este eluato FC:13,3 se almacenó en un vial de plástico. Finalmente, las réplicas se analizaron siguiendo el procedimiento descrito PR-LABCAM-62 para determinación de metales disueltos en aguas. Se determinó inicialmente que la muestra no tiene concentración del mensurando.		
Concentración esperada (µg Cu/L)	33,3	2,50
ITEM	Concentración en el eluato (µg Cu/L)	Concentración real (µg Cu/L)
1	26,2	1,97
2	27,4	2,06
3	27,1	2,03
4	28,2	2,12
5	28,5	2,14
6	29,4	2,21
7	29,9	2,24
8	29,2	2,19
9	30,0	2,25
10	30,1	2,26
Promedio	28,6	2,15
SD	1,35	0,10
RSD	4,74	4,74
% Recuperación	85,8	85,8
Valor Mínimo	26,2	1,97
Valor Máximo	30,1	2,26
T rechazo al LC 95%	2,18	2,18
T de Rechazo de datos (Valor Mínimo)	1,77	1,77
T de Rechazo de datos (Valor máximo)	1,11	1,11
Valor critico 99% n-1	2,82	2,82
LDM	3,82	0,29
LCM estimado	13,5	1,02
CONCLUSIONES: La concentración estimada como LCM 1,02 µg Cu/L, se encuentra por debajo del límite inferior de trabajo de la curva de calibración, por lo tanto, se establece la concentración de 2,50 µg Cu/L, como LCM del método, debido a que después de la repetibilidad realizada se obtuvo una RSD de 4,74 % y una recuperación de 85,8 %, lo cual, se encuentra dentro de los criterios de aceptación del LABCAM. RSD < 15 % y Recuperación (60-110) %		
Nota: Si el T calculado es mayor que el T de la Tabla para un 95% de confianza se rechaza el dato. Si se rechazan más de dos datos, se repite el ensayo.		

APÉNDICE D. COMPROBACIÓN DEL LDM Y LCM - MANGANESO

		RE-LABCAM
DETERMINACIÓN LDM Y LCM		
METODO:	Determinación de metales en aguas marinas por ICP-OES SM 3120B - Limpieza de muestras con resina NOBIAS Chelate PA-1	Fecha: 29/10/2019
OBJETIVO:	Estimar el valor del LDM de Mn en agua de mar concentrada 13,3 veces con la resina NC PA-1	
EQUIPO:	ICPE-9820	ANALISTA: Carlos Jaimes
DESCRIPCIÓN: Para esta prueba, preconcentró a partir de la resina NOBIAS Chelate PA-1, diez réplicas de muestra de océano abierto de código interno (13180) con una concentración adicionada de 0,40 µg Mn/L. Inicialmente se adecuó la resina pasando a través de ella 15mL de HNO ₃ 1M, 30mL de agua desionizada microfiltrada y 40 mL de Buffer 0,05M (pH:6,0), después se midió 200 mL de muestra de mar microfiltrada para cada replica, se adicionó se adicionó 3 ml de buffer 0,05 M y se ajustó a pH 6.00 ± 0.05 con amoníaco y HNO ₃ , luego la muestra se inyectó manualmente, por medio de una jeringa plástica, a través de la resina y finalmente se inyectó en sentido inverso 15 mL de HNO ₃ 1M, este eluato FC:13,3 se almacenó en un vial de plástico. Finalmente, las réplicas se analizaron siguiendo el procedimiento descrito PR-LABCAM-62 para determinación de metales disueltos en aguas. Se determinó inicialmente que la muestra no tiene concentración del mensurando.		
Concentración esperada (µg Mn/L)	5,33	0,40
Réplica	Concentración en el eluato (µg Mn/L)	Concentración real (µg Mn/L)
1	5,18	0,39
2	4,83	0,36
3	4,18	0,31
4	4,45	0,33
5	4,35	0,33
6	4,31	0,32
7	4,69	0,35
8	4,22	0,32
9	4,49	0,34
10	4,33	0,32
Promedio	4,50	0,34
SD	0,31	0,023
RSD	6,94	6,94
% Recuperación	84,4	84,4
Valor Mínimo	4,18	0,31
Valor Máximo	5,18	0,39
T rechazo al LC 95%	2,18	2,18
T de Rechazo de datos (Valor Mínimo)	1,03	1,03
T de Rechazo de datos (Valor máximo)	2,17	2,17
Valor critico 99% n-1	2,82	2,82
LDM	0,88	0,066
LCM estimado	3,12	0,23
CONCLUSIONES: La concentración estimada como LCM 0,23 µg Mn/L, se encuentra por debajo del límite inferior de trabajo de la curva de calibración, por lo tanto, se establece la concentración de 0,40 µg Mn/L, como LCM del método, debido a que después de la repetibilidad realizada se obtuvo una RSD de 6,94 % y una recuperación de 84,4 %, lo cual, se encuentra dentro de los criterios de aceptación del LABCAM. RSD < 15 % y Recuperación (60-110) %		
Nota: Si el T calculado es mayor que el T de la Tabla para un 95% de confianza se rechaza el dato. Si se rechazan más de dos datos, se repite el ensayo.		


APÉNDICE E. COMPROBACIÓN DEL LDM Y LCM - PLOMO

		RE-LABCAM
DETERMINACIÓN LDM Y LCM		
METODO:	Determinación de metales en aguas marinas por ICP-OES SM 3120B - Limpieza de muestras con resina NOBIAS Chelate PA-1	Fecha: 29/10/2019
OBJETIVO:	Estimar el valor del LDM de Pb en agua de mar concentrada 13,3 veces con la resina NC PA-1	
EQUIPO:	ICPE-9820	ANALISTA: Carlos Jaimes
DESCRIPCIÓN: Para esta prueba, preconcentró a partir de la resina NOBIAS Chelate PA-1, diez réplicas de muestra de océano abierto de código interno (13180) con una concentración adicionada de 5,00 µg Pb/L. Inicialmente se adecuó la resina pasando a través de ella 15 mL de HNO ₃ 1M, 30mL de agua desionizada microfiltrada y 40 mL de Buffer 0,05M (pH:6,0), después se midió 200 mL de muestra de mar microfiltrada para cada replica, se adicionó se adicionó 3 ml de buffer 0,05 M y se ajustó a pH 6.00 ± 0.05 con amoníaco y HNO ₃ , luego la muestra se inyectó manualmente, por medio de una jeringa plástica, a través de la resina y finalmente se inyectó en sentido inverso 15 mL de HNO ₃ 1M, este eluato FC:13,3 se almacenó en un vial de plástico. Finalmente, las réplicas se analizaron siguiendo el procedimiento descrito PR-LABCAM-62 para determinación de metales disueltos en aguas. Se determinó inicialmente que la muestra no tiene concentración del mensurando.		
Concentración esperada (µg Pb/L)	66,7	5,00
ITEM	Concentración en el eluato (µg Pb/L)	Concentración real (µg Pb/L)
1	54,2	4,07
2	59,7	4,48
3	59,7	4,48
4	59,9	4,49
5	60,2	4,52
6	61,5	4,61
7	61,7	4,63
8	62,2	4,67
9	62,4	4,68
10	63,0	4,73
Promedio	60,5	4,53
SD	2,51	0,19
RSD	4,15	4,15
% Recuperación	90,7	90,7
Valor Mínimo	59,7	4,48
Valor Máximo	63,0	4,73
T rechazo al LC 95%	2,18	2,18
T de Rechazo de datos (Valor Mínimo)	0,30	0,30
T de Rechazo de datos (Valor máximo)	1,02	1,02
Valor critico 99% n-1	2,82	2,82
LDM	7,07	0,53
LCM estimado	25,1	1,88
CONCLUSIONES: La concentración estimada como LCM 1,88 µg Pb/L, se encuentra por debajo del límite inferior de trabajo de la curva de calibración, por lo tanto, se establece la concentración de 5,00 µg Pb/L, como LCM del método, debido a que después de la repetibilidad realizada se obtuvo una RSD de 4,15 % y una recuperación de 90,7 %, lo cual, se encuentra dentro de los criterios de aceptación del LABCAM. RSD < 15 % y Recuperación (60-110) %		
Nota: Si el T calculado es mayor que el T de la Tabla para un 95% de confianza se rechaza el dato. Si se rechazan más de dos datos, se repite el ensayo.		


APÉNDICE F. COMPROBACIÓN DEL LDM Y LCM - ZINC

<div></div>			RE-LABCAM
DETERMINACIÓN LDM Y LCM			
METODO:	Determinación de metales en aguas marinas por ICP-OES SM 3120B - Limpieza de muestras con resina NOBIAS Chelate PA-1		Fecha: 29/10/2019
OBJETIVO:	Estimar y calcular el valor del LDM de Zn en agua de mar concentrada 13,3 veces con la resina NQ PA-1		
EQUIPO:	ICPE-9820	ANALISTA: Carlos Jaimes	
DESCRIPCIÓN: Para esta prueba, se preconcentró a partir de la resina NOBIAS Chelate PA-1, diez réplicas de muestra de océano abierto de código interno (13180) con una concentración adicionada de 5,00 µg Zn/L. Inicialmente se adecuó la resina pasando a través de ella 15mL de HNO3 1M, 30mL de agua desionizada microfiltrada y 40 mL de Buffer 0,05M (pH:6,0), después se midió 200 mL de muestra de mar microfiltrada para cada replica, se adicionó se adicionó 3 ml de buffer 0,05 M y se ajustó a pH 6.00 ± 0.05 con amoniaco y HNO3, luego la muestra se inyectó manualmente, por medio de una jeringa plástica, a través de la resina y finalmente se inyectó en sentido inverso 15 mL de HNO3 1 M, este eluato se almacenó en un vial de plástico. Finalmente, las réplicas se analizaron siguiendo el procedimiento descrito PR-LABCAM-62 para determinación de metales disueltos en aguas. Se determinó inicialmente que la muestra presenta una concentración de 11,4 µg Zn/L			
Concentración de muestra eluato (µg Zn/L)	Concentración real muestra (µg Zn/L)	Concentración en el eluato (µg Zn/L)	Concentración real (µg Zn/L)
152	11,4	66,7	5,00
Réplica			
1		188	2,70
2		201	3,68
3		191	2,93
4		227	5,63
5		207	4,13
6		210	4,35
7		208	4,20
8		212	4,50
9		209	4,28
10		212	4,50
Promedio		209	4,24
SD		9,58	0,72
RSD		4,59	16,9
% Recuperación		84,8	84,8
Valor Mínimo		191	2,93
Valor Máximo		227	5,63
T rechazo al LC 95%		2,11	2,11
T de Rechazo de datos (Valor Mínimo)		1,83	1,83
T de Rechazo de datos (Valor máximo)		1,93	1,93
Valor critico 99% n-1		2,82	2,82
LDM		27,0	2,03
LCM estimado		95,8	7,19
CONCLUSIONES: Se realizó la prueba T con 95 % de confianza y fue necesario rechazar un dato. La concentración estimada como LCM fue 7,19 µg Pb/L; por otra parte, el adicionado de 5,00 µg Pb/L realizado en la muestra de mar presentó valores de RSD y % recuperación (4,59 y 84,8) % respectivamente los cuales por lo que se encuentran dentro de los criterios de aceptación del LABCAM. RSD < 15 % y Recuperación (60-110) %. Por lo anterior se establece la concentración de 5,00 µg Pb/L, como LCM del método.			
Nota: Si el T calculado es mayor que el T de la Tabla para un 95% de confianza se rechaza el dato. Si se rechazan más de dos datos, se repite el ensayo.			


APÉNDICE G. RESULTADOS DE CADMIO DISUELTO

<div></div>									RE- LABCAM
PAGINA 1 DE 1		VALIDACIÓN Y/O VERIFICACIÓN DE TÉCNICAS ANALÍTICAS							
Cd disuelto en aguas Análisis: <u>marinas</u>					Equipo: <u>ICPE 9820</u> Validación: <u>X</u>		Método: <u>3120 B</u> Verificación n: <u> </u>		
DATOS DE CONCENTRACIÓN EN (µg/L)									
ENSAYO	Blanco	BF.b	BF.m	BF.a	MRm (13180)	MRm +Ab	MRm +Am	MRm +Aa	MI 3326-17A
	0	1,00	10,0	20,0	Agua Marina	1,00	10,0	20,0	675
1	0,03	0,88	8,10	16,4	0,07	0,86	6,86	16,2	597
2	0,01	0,90	8,25	16,4	0,06	0,87	8,10	17,5	564
3	0,03	0,89	8,25	16,3	0,06	0,84	8,18	15,8	588
4	0,01	0,89	8,33	16,1	0,02	0,89	8,18	16,1	639
5	0,02	0,86	8,40	15,9	0,05	0,84	8,18	15,8	621
6	0,01	0,86	8,40	17,0	-0,03	0,83	8,25	16,5	600
7	0,01	0,86	8,40	16,7	-0,04	0,84	8,25	16,4	609
8	-0,02	0,88	8,40	16,3	-0,02	0,86	8,40	16,7	612
9	-0,02	0,86	8,48	17,3	-0,01	0,80	8,48	15,2	615
10	0,01	0,84	8,78	16,7	-0,04	0,83	8,70	16,3	603
Promedio	0,01	0,87	8,33	16,5	0,01	0,85	8,30	16,2	605
SD	0,02	0,02	0,12	0,40	0,04	0,02	0,19	0,60	20,1
RSD	164	2,37	1,38	2,45	354	2,81	2,30	3,69	3,33
Valor Mínimo	-	0,84	8,10	15,9	-0,04	0,80	8,10	15,2	564
Valor Máximo	-	0,90	8,48	17,3	0,07	0,89	8,70	17,5	639
n (Número de datos)	10	10	9	10	10	10	9	10	10
T de rechazo de datos (valor mínimo)	-	1,46	2,02	1,47	1,27	1,80	1,05	1,69	2,03
T de rechazo de datos (valor maximo)	-	1,46	1,23	1,88	1,33	1,68	2,09	2,07	1,70
Rango	-	0,06	0,38	1,35	0,12	0,08	0,60	2,25	75,0
T tabla a 95%	-	2,18	2,11	2,18	2,18	2,18	2,11	2,18	2,18
% Recuperación	-	87,0	83,3	82,5	-	84,5	82,9	81,2	89,6


APÉNDICE H. RESULTADOS DE COBALTO DISUELTO

<div></div>									RE- LABCAM
PAGINA 1 DE 1		VALIDACIÓN Y/O VERIFICACIÓN DE TÉCNICAS ANALÍTICAS							
Análisis:	Co disuelto en aguas marinas				Equipo:	ICPE 9820		Método :	3120 B
					Validación:	X	Verificación:		
DATOS DE CONCENTRACIÓN EN (µg/L)									
ENSAYO	Blanco	BF.b	BF.m	BF.a	MRm (13180)	MRm + Ab	MRm +Am	MRm + Aa	MI 3326-17A
	0	1,00	10,0	20,0	Agua Marina	1,00	10,0	20,0	339
1	-0,02	0,81	8,10	15,8	-0,02	0,78	7,22	12,9	295
2	-0,01	0,87	8,03	15,9	-0,04	0,71	7,34	14,0	286
3	-0,08	0,83	7,88	15,8	-0,05	0,73	6,27	14,3	290
4	-0,03	0,86	8,40	15,6	-0,06	0,73	7,43	14,4	291
5	-0,05	0,82	8,33	15,3	-0,04	0,71	7,58	14,5	290
6	0,00	0,87	7,80	16,6	0,02	0,76	7,44	14,6	306
7	-0,01	0,88	8,03	15,5	0,00	0,80	6,90	14,7	294
8	-0,05	0,82	8,10	15,9	-0,01	0,75	7,28	14,7	298
9	-0,02	0,85	8,40	16,4	0,03	0,74	8,03	14,9	315
10	-0,02	0,86	8,03	16,2	-0,03	0,79	8,03	15,4	306
Promedio	-0,03	0,84	8,11	15,9	-0,02	0,75	7,35	14,6	297
SD	0,02	0,03	0,22	0,39	0,03	0,03	0,51	0,39	9,24
RSD	-84	2,97	2,69	2,47	-140	4,07	6,98	2,64	3,11
Valor Mínimo	-	0,81	7,80	15,3	-0,06	0,71	6,27	14,0	286
Valor Máximo	-	0,88	8,40	16,6	0,03	0,80	8,03	15,4	315
N (Número de datos)	10	10	10	10	10	10	10	9	10
T de rechazo de datos (valor mínimo)	-	1,38	1,41	1,49	1,30	1,24	2,11	1,49	1,24
T de rechazo de datos (valor maximo)	-	1,32	1,34	1,76	1,61	1,52	1,32	2,01	1,94
Rango	-	0,07	0,60	1,28	0,09	0,08	1,76	1,35	29,4
T tabla a 95%	-	2,18	2,18	2,18	2,18	2,18	2,18	2,11	2,18
% Recuperación	-	84,5	81,1	79,4	-	74,9	73,7	73,0	87,6


APÉNDICE I. RESULTADOS DE COBRE DISUELTO

<div></div>									RE- LABCAM	
PAGINA 1 DE 1		VALIDACIÓN Y/O VERIFICACIÓN DE TÉCNICAS ANALÍTICAS								
Análisis:		Cu disuelto en aguas marinas			Equipo:		ICPE 9820		Método:	3120 B
					Validación:		X		Verificación :	
DATOS DE CONCENTRACIÓN EN (µg/L)										
ENSAYO	Blanco	BF.b	BF.m	BF.a	MRm (13180)	MRm +Ab	MRm +Am	MRm +Aa	MI (3326-17A)	
	0	5,00	30,0	60,0	Agua Marina	5,00	30,0	60,0	484	
1	0,04	4,86	27,8	56,0	0,42	4,51	26,9	57,6	441	
2	-0,03	5,00	30,0	55,1	0,23	4,37	27,2	56,2	444	
3	-0,01	4,97	29,3	55,9	0,21	4,40	27,7	56,6	444	
4	-0,05	4,94	30,5	54,8	0,18	4,47	24,2	58,9	447	
5	-0,07	4,98	29,3	53,3	0,17	4,33	27,8	56,2	459	
6	0,11	4,85	31,7	58,8	0,27	4,47	27,2	57,5	459	
7	0,14	5,03	27,5	61,9	0,32	4,50	27,2	56,7	462	
8	0,11	4,98	27,5	62,6	0,27	4,44	24,0	56,0	471	
9	0,11	5,00	27,4	56,3	0,43	4,37	27,6	55,2	474	
10	0,20	4,99	27,5	56,3	0,27	4,43	27,7	56,7	510	
Promedio	0,06	4,96	28,8	57,1	0,28	4,43	26,7	56,7	456	
SD	0,09	0,06	1,55	3,05	0,09	0,06	1,43	1,03	12,2	
RSD	164	1,18	5,38	5,34	33	1,37	5,35	1,81	2,68	
Valor Mínimo	-	4,85	27,4	53,3	0,17	4,33	24,00	55,2	441	
Valor Máximo	-	5,03	31,7 3	62,6	0,43	4,51	27,83	58,9	474	
N (Número de datos)	10	10	10	10	10	10	10	10	9	
T de rechazo de datos (valor mínimo)	-	1,83	0,95	1,23	1,14	1,67	1,91	1,51	1,20	
T de rechazo de datos (valor maximo)	-	1,11	1,86	1,80	1,74	1,30	0,77	2,07	1,50	
Rango	-	0,17	4,35	9,22	0,26	0,18	3,83	3,68	33,0	
T tabla a 95%	-	2,18	2,18	2,18	2,18	2,18	2,18	2,18	2,11	
% Recuperación	-	99,2	96,2	95,1	-	88,6	88,2	94,4	94,1	


APÉNDICE J. RESULTADOS DE MANGANESO DISUELTO

<div></div>									RE- LABCAM	
PAGINA 1 DE 1		VALIDACIÓN Y/O VERIFICACIÓN DE TÉCNICAS ANALÍTICAS								
Análisis:		Mn disuelto en aguas marinas				Equipo:		ICPE 9820	Método :	3120 B
						Validación:		X	Verificación:	
DATOS DE CONCENTRACIÓN EN (µg/L)										
ENSAYO	Blanco	BF.b	BF.m	BF.a	MRm (13180)	MRm +Ab	MRm +Am	MRm +Aa	MI 3326-17A	
	0	1,00	10,0	20,0	Agua Marina	1,00	10,0	20,0	426	
1	0,04	0,95	7,95	14,8	0,52	1,68	6,64	11,0	387	
2	0,01	0,98	7,95	15,2	0,48	1,59	7,58	13,1	375	
3	0,01	0,95	7,73	15,0	0,52	1,52	7,09	12,2	384	
4	0,00	0,95	8,40	14,9	0,49	1,58	7,04	12,5	384	
5	0,01	0,88	8,18	14,6	0,50	1,52	7,28	12,6	381	
6	0,03	0,97	7,80	15,2	0,55	1,61	6,08	12,7	393	
7	0,03	1,00	8,03	15,2	0,52	1,73	6,51	12,8	384	
8	0,03	0,97	7,88	14,9	0,52	1,61	7,01	12,8	384	
9	0,03	0,96	8,25	15,3	0,53	1,60	7,15	13,1	396	
10	0,03	0,89	8,25	14,6	0,55	1,62	6,97	11,7	393	
Promedio	0,02	0,95	8,04	15,0	0,52	1,61	6,93	12,6	386	
SD	0,01	0,04	0,22	0,27	0,02	0,07	0,42	0,45	6,33	
RSD	56,1	3,88	2,74	1,83	4	4,06	6,09	3,54	1,64	
Valor Mínimo	-	0,88	7,7	14,6	0,48	1,52	6,08	11,7	375	
Valor Máximo	-	1,00	8,40	15,3	0,55	1,73	7,58	13,1	396	
N (Número de datos)	10	10	10	10	10	10	10	9	10	
T de rechazo de datos (valor mínimo)	-	1,92	1,43	1,48	1,72	1,38	2,01	2,00	1,75	
T de rechazo de datos (valor maximo)	-	1,35	1,63	1,26	1,46	1,96	1,52	1,20	1,56	
Rango	-	0,12	0,68	0,75	0,07	0,22	1,49	1,43	21,0	
T tabla a 95%	-	2,18	2,18	2,18	2,18	2,18	2,18	2,11	2,18	
% Recuperación	-	94,8	80,4	74,8	-	109	64,2	60,4	90,6	

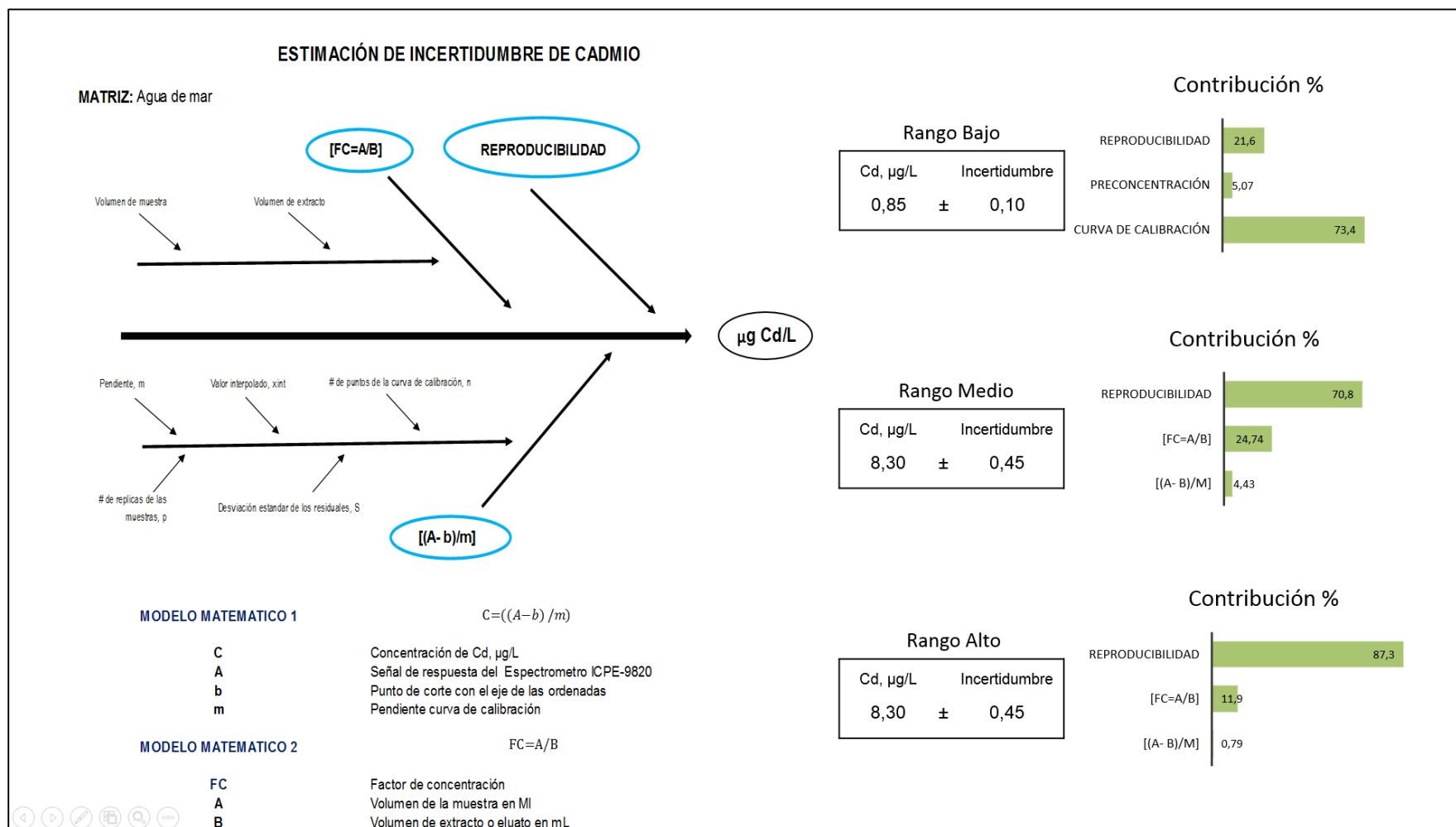
APÉNDICE K. RESULTADOS DE PLOMO DISUELTO

<div></div>									RE-LABCAM	
PAGINA 1 DE 1		VALIDACIÓN Y/O VERIFICACIÓN DE TÉCNICAS ANALÍTICAS								
Análisis:		Pb disuelto en aguas marinas				Equipo:		ICPE 9820	Método	3120 B
						Validación		X	Verificación	:
DATOS DE CONCENTRACIÓN EN (µg/L)										
ENSAYO	Blanco	BF.b	BF.m	BF.a	MRm (13180)	MRm +Ab	MRm +Am	MRm +Aa	MI (3326-17A)	
	0	10,00	50,0	100,0	Agua Marina	10,00	50,0	100,0	1000	
1	0,09	7,40	45,30	88,5	0,95	8,25	42,5	90,8	948	
2	0,34	7,80	42,90	87,0	0,56	8,25	43,2	84,8	924	
3	-0,11	7,50	41,70	89,3	0,53	8,25	42,8	89,3	927	
4	0,18	7,40	45,30	85,5	0,41	8,48	40,9	88,5	951	
5	0,16	7,46	44,25	84,8	0,11	8,10	41,7	87,8	939	
6	0,43	7,37	42,00	90,8	0,25	8,48	41,3	85,5	972	
7	-0,11	7,58	40,28	88,5	0,38	8,70	41,9	83,3	948	
8	0,48	7,58	41,25	87,0	0,10	8,40	37,4	84,8	936	
9	0,09	7,65	42,53	90,8	0,83	7,95	37,7	84,0	960	
10	-0,08	7,50	44,25	84,0	0,73	8,18	43,1	83,3	945	
Promedio	0,15	7,52	43,0	87,6	0,49	8,30	41,2	86,2	945	
SD	0,22	0,13	1,74	2,37	0,29	0,22	2,10	2,68	14,5	
RSD	149	1,77	4,04	2,70	59,8	2,59	5,08	3,11	1,53	
Valor Mínimo	-	7,37	40,3	84,0	0,10	7,95	37,35	83,3	924	
Valor Máximo	-	7,80	45,30	90,8	0,95	8,70	43,20	90,8	972	
N (Número de datos)	10	10	10	10	10	10	10	10	10	
T de rechazo de datos (valor mínimo)	-	1,18	1,56	1,52	1,32	1,64	1,86	1,09	1,45	
T de rechazo de datos (valor maximo)	-	2,09	1,34	1,33	1,58	1,85	0,93	1,71	1,86	
Rango	-	0,44	5,03	6,75	0,84	0,75	5,85	7,50	48,0	
T tabla a 95%	-	2,18	2,18	2,18	2,18	2,18	2,18	2,11	2,18	
% Recuperación	-	75,2	86,0	87,6	-	83,0	82,5	86,2	94,5	

APÉNDICE L. RESULTADOS DE ZINC DISUELTO

<div></div>									RE- LABCA M		
PAGINA 1 DE 1		VALIDACIÓN Y/O VERIFICACIÓN DE TÉCNICAS ANALÍTICAS									
Análisis:		Zn disuelto en aguas marinas				Equipo:		ICPE 9820		Método :	3120 B
						Validación :		X Verificación :			
DATOS DE CONCENTRACIÓN EN (µg/L)											
ENSAYO	Blanco	BF.b	BF.m	BF.a	MRm (13180)	MRm +Ab	MRm +Am	MRm +Aa	MI 3326-17A		
		10,00	50,0	100,0	Agua Marina	10,00	50,0	100,0	888		
1	2,55	11,6	52,5	109	6,75	14,2	57,8	101	948		
2	3,10	11,8	45,9	101	5,85	14,4	56,9	98,3	981		
3	3,35	12,0	53,4	93,8	5,93	14,4	57,9	92,3	945		
4	3,63	12,2	48,4	90,8	5,30	14,5	59,2	96,0	987		
5	3,94	13,7	51,4	87,8	5,55	14,5	54,7	92,3	981		
6	4,19	13,9	52,9	101	5,62	14,5	48,4	101	1002		
7	4,57	14,1	51,1	96,0	5,83	14,6	49,4	94,5	960		
8	4,61	14,2	44,9	91,5	5,21	14,7	48,6	96,8	936		
9	5,65	35,8	49,9	87,8	6,44	14,8	45,7	94,5	987		
10	7,26	36,8	47,0	101	5,84	15,2	50,4	106	993		
Promedio	3,95	12,9	49,7	95,9	5,83	14,5	52,9	97,3	972		
Desvest (s)	0,93	1,13	3,04	6,83	0,47	0,18	4,91	4,37	22,8		
%CV	23,5	8,75	6,11	7,12	8,11	1,24	9,28	4,50	2,35		
Valor Mínimo	2,55	11,63	44,9	87,8	5,21	14,2	45,7	92,3	936		
Valor Máximo	5,65	14,2	53,4	109	6,75	14,8	59,2	106	1002		
N (Número de datos)	9	8	10	10	10	9	10	10	10		
T de rechazo de datos (valor mínimo)	1,51	1,15	1,60	1,19	1,31	1,81	1,47	1,15	1,58		
T de rechazo de datos (valor maximo)	1,82	1,10	1,21	1,89	1,94	1,53	1,28	1,94	1,31		
Rango	3,10	2,55	8,55	21,0	1,54	0,60	13,50	13,50	66,0		
T tabla a 95%	2,18	2,18	2,18	2,18	2,18	2,18	2,18	2,11	2,18		
% Recuperación	-	89,7	91,5	91,9	-	86,7	94,1	91,4	109		

APÉNDICE M. DIAGRAMA CAUSA - EFECTO Y CONTRIBUCIONES DE INCERTIDUMBRE Cd



APÉNDICE N. PARAMETROS INSITU MUESTREO - BAHÍA DE SANTA MARTA

PLANILLA DE DATOS DE CAMPO Parámetros IN-SITU												COORDENADAS		OBSERVACIONES	
No.	Punto o Estación de Muestreo	HORA	PROF (m)	TRANSP (m)	TEMP (°C)	COND (mS/cm)	SAL	pH	O ₂ DIS (mg/L)	SAT Oxi					
1	Playa Batallón - S	08:42	2,9	1,0	29,6	47,0	30,8	8,06	5,6	81,0	N	11	14	00,4	BAT
											W	74	13	24,6	TpH=29,1°C
2	Playa Batallón - S Duplicado	08:44	2,9	1,0	29,6	47,0	30,8	8,06	5,8	88,0	N	11	14	00,4	BAT
											W	74	13	21,6	TpH=29,1°C
3	Boca Río Manzanares-S	09:00	1,7	0,2	27,8	33,0	20,7	8,04	5,0	82,0	N	14	14	10,8	BMAN
											W	74	13	45,9	TpH=27,3°C
4	Fte Río Manzanares - S	09:14	27,7	4,0	29,8	49,2	32,6	8,07	5,6	85,0	N	11	14	11,1	FMAN
											W	74	13	22,8	TpH=29,2°C
5	Fte Río Manzanares - F	09:29	27,7	—	29,3	52,0	34,2	8,03	5,2	87,0	N	14	14	17,1	FMAN
											W	74	13	23,8	TpH=29,1°C
6	Puente Calle 22 - S	11:51	0,9	0,9	30,4	48,8	32,2	8,02	4,3	76,0	N	14	14	24,9	CL22
											W	74	12	58,2	TpH=30,4°C
7	Playa Municipal - S	12:00	2,7	2,7	30,1	49,0	33,5	8,09	5,6	90,0	N	11	14	36,6	PMUN
											W	74	12	57,7	TpH=30,2°C
8	Boya 2-S	11:31	9,9	4,5	30,0	50,0	33,1	8,07	5,8	89,0	N	11	14	37,3	BOY2
											W	74	13	12,9	TpH=30,4°C
9	Boya 2-F	11:39	9,9	—	29,8	52,0	34,5	8,06	5,4	90,0	N	11	14	37,3	BOY2
											W	74	13	12,9	TpH=30,0°C
10	Muelle de Cabotaje (Calle 10) - S	12:10	1,3	1,3	30,5	50,0	33,1	8,07	4,8	88,0	N	11	14	51,2	MCAB
											W	74	12	53,5	TpH=30,5°C
11	Frente a Punta Betín - S	12:25	12,6	4,0	30,4	50,5	33,3	8,01	5,1	75,0	N	11	14	59,0	BOY3
											W	74	13	15,4	TpH=30,6°C
12	Frente a Punta Betín - F	12:36	12,6	—	30,0	51,9	34,5	8,03	5,2	83,0	N	11	14	59,0	BOY3
											W	74	13	15,4	TpH=30,4
13	Emisario - S	12:52	27,5	4,5	30,2	51,5	34,0	8,07	5,0	81,0	N	11	15	24,4	EMI
											W	74	13	07,5	TpH=30,3
14	Emisario - F	12:02	27,5	—	29,2	52,9	35,1	35,2	6,2	99,0	N	11	15	24,4	EMI
											W	74	13	07,5	TpH=29,1°C
15								8,05	5,9	86,0	N				
											W				
Fecha muestreo: 10-10-19		Equipos utilizados	Prof.: Ecosonda Transp.: NA		Cond #: 21011370 Marca y Ref: WTW		pH #: 21010889 Marca y Ref: WTW		Oxi #: 21010905 Marca y Ref: WTW		Tipo de muestreo: Puntual		Carpeta de campo #:		
Cliente: Tesis Carlos Jaimes		Métodos de Ensayo:	Prof.: Transp.: NA		Conductividad: SM 2510 B Salinidad: SM 2520 B Temperatura: SM 2550 B		pH: SM 4500 H+		Oxígeno disuelto: ISO 17289		Responsable de las mediciones: KI - CJ - RR - BC		Fecha de Reporte SISLAB:		

ANEXOS

ANEXO 1. Valores críticos F para un contraste de dos colas ($P= 0.05$).

Fuente: (Miller & Miller J, 2002, pág. 264)

v_2	v_1												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	15	20
1	647.8	799.5	864.2	899.6	921.8	937.1	948.2	956.7	963.3	968.6	976.7	984.9	993.1
2	38.51	39.00	39.17	39.25	39.30	39.33	39.36	39.37	39.39	39.40	39.41	39.43	39.45
3	17.44	16.04	15.44	15.10	14.88	14.73	14.62	14.54	14.47	14.42	14.34	14.25	14.17
4	12.22	10.65	9.979	9.605	9.364	9.197	9.074	8.980	8.905	8.844	8.751	8.657	8.560
5	10.01	8.434	7.764	7.388	7.146	6.978	6.853	6.757	6.681	6.619	6.525	6.428	6.329
6	8.813	7.260	6.599	6.227	5.988	5.820	5.695	5.600	5.523	5.461	5.366	5.269	5.168
7	8.073	6.542	5.890	5.523	5.285	5.119	4.995	4.899	4.823	4.761	4.666	4.568	4.467
8	7.571	6.059	5.416	5.053	4.817	4.652	4.529	4.433	4.357	4.295	4.200	4.101	3.999
9	7.209	5.715	5.078	4.718	4.484	4.320	4.197	4.102	4.026	3.964	3.868	3.769	3.667
10	6.937	5.456	4.826	4.468	4.236	4.072	3.950	3.855	3.779	3.717	3.621	3.522	3.419
11	6.724	5.256	4.630	4.275	4.044	3.881	3.759	3.664	3.588	3.526	3.430	3.330	3.226
12	6.554	5.096	4.474	4.121	3.891	3.728	3.607	3.512	3.436	3.374	3.277	3.177	3.073
13	6.414	4.965	4.347	3.996	3.767	3.604	3.483	3.388	3.312	3.250	3.153	3.053	2.948
14	6.298	4.857	4.242	3.892	3.663	3.501	3.380	3.285	3.209	3.147	3.050	2.949	2.844
15	6.200	4.765	4.153	3.804	3.576	3.415	3.293	3.199	3.123	3.060	2.963	2.862	2.756
16	6.115	4.687	4.077	3.729	3.502	3.341	3.219	3.125	3.049	2.986	2.889	2.788	2.681
17	6.042	4.619	4.011	3.665	3.438	3.277	3.156	3.061	2.985	2.922	2.825	2.723	2.616
18	5.978	4.560	3.954	3.608	3.382	3.221	3.100	3.005	2.929	2.866	2.769	2.667	2.559
19	5.922	4.508	3.903	3.559	3.333	3.172	3.051	2.956	2.880	2.817	2.720	2.617	2.509
20	5.871	4.461	3.859	3.515	3.289	3.128	3.007	2.913	2.837	2.774	2.676	2.573	2.464

v_1 = número de grados de libertad del numerador y v_2 = número de grados de libertad del denominador.

ANEXO 2. Tabla de distribución de t.

Para un contraste de dos colas se toma el t_{n-2} de ($P=0,05$), para contraste de una cola se usará el t_{n-2} de ($P= 0,10$)

Fuente: (INVEMAR, 2018b)

<i>Valor de t para un intervalo de confianza de</i>	<i>90%</i>	<i>95%</i>
<i>Valor crítico de t para valores de P de número</i>	<i>0.10</i>	<i>0.05</i>
<i>de grados de libertad</i>		
1	6.31	12.71
2	2.92	4.30
3	2.35	3.18
4	2.13	2.78
5	2.02	2.57
6	1.94	2.45
7	1.89	2.36
8	1.86	2.31
9	1.83	2.26
10	1.81	2.23
12	1.78	2.18
14	1.76	2.14
16	1.75	2.12
18	1.73	2.10
20	1.72	2.09
30	1.70	2.04
50	1.68	2.01
∞	1.64	1.96